



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

**VYUŽITÍ METOD ROZPTYLU SVĚTLA PRO STUDIUM
GELACE HYDROGELU**

THE UTILIZATION OF LIGHT SCATTERING TECHNIQUES FOR THE STUDY ON HYDROGEL GELATION

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Simona Candráková

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Michal Kalina, Ph.D.

BRNO 2018

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1132/2016
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie
Studentka: **Simona Candráková**
Studijní program: Chemie a chemické technologie
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace
Vedoucí práce: **Ing. Michal Kalina, Ph.D.**
Akademický rok: 2017/18

Název bakalářské práce:

Využití metod rozptylu světla pro studium gelace hydrogelu

Zadání bakalářské práce:

- 1) Literární rešerše na téma metody studia vhodné pro určení bodu gelace hydrogelu s důrazem na využití metod rozptylu světla
- 2) Zvolení vhodných zástupců fyzikálně a chemicky síťovaných hydrogelů, jejichž gelaci by bylo možné studovat metodami rozptylu světla (opticky transparentní gely)
- 3) Optimalizace měřících metod a samotné experimentální určení bodu gelace
- 4) Korelace získaných experimentálních dat s tabelovanými hodnotami resp. s hodnotami stanovenými jinými metodami
- 5) Zhodnocení experimentálních výsledků a závěry

Termín odevzdání bakalářské práce: 21.5.2018

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Simona Candráková
student(ka)

Ing. Michal Kalina, Ph.D.
vedoucí práce

prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 31.1.2017

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Táto bakalárska práca je zameraná na štúdium gelácie hydrogélom pomocou využitia metód rozptylu svetla. Pre tieto účely boli v práci zvolené dva biopolyméry (agaróza a alginát sodný), u ktorých prebieha gelácia rozdielnym spôsobom. V prvom prípade ide o geláciu spôsobenú zmenou teploty, v druhom potom prídavkom viazavého kationu. V rámci experimentálnej časti práce bola najskôr študovaná gelácia agarózy metódou DLS, boli merané teplotné rampy roztokov agarózy (40 – 30 °C), kde boli sledované veľkosti častíc v roztokoch o rôznych koncentráciách a ich pôsobenie na meraný difúzny koeficient. Metódou DLS boli stanovené hodnoty teplôt gelácie roztokov o koncentracii 0,5 hm.% a 1,0 hm.%. Ďalej bola použitá metóda DLS mikrorheológie, kde boli taktiež merané teplotné rampy agarózových roztokov (40 – 30 °C), z ktorých boli vyhodnotené teploty gelácie roztokov agarózy o koncentracii 0,1 hm.% a 0,5 hm.%. V práci bola tiež používaná klasická reológia, kvôli vzájomnému porovnaniu viskoelastického chovania látok a zisteniu bodu gelácie roztokov agarózy. Touto metódou boli zistené teploty gelácie pre koncentrácie 0,1 hm.%, 0,5 hm.% a 1,0 hm.%. Metóda DLS bola použitá aj k sledovaniu interakcií alginátu sodného pri prídavku Ca^{2+} iónov, tieto interakcie boli následne tiež vyhodnotené a diskutované v experimentálnej časti.

ABSTRACT

This bachelor thesis focuses on the study of hydrogel gelation using light scattering methods. For these purposes two different biopolymers (agarose and sodium alginate), with different sol to gelation phase transition, were selected. In the case of agarose, the gelation is caused by temperature change. On the other side, the gelation of sodium alginate is initiated by addition of polyvalent cations. In the experimental part of the work, agarose gelation was studied by DLS, temperature gradients of agarose solutions (40 – 30 °C) were measured. During the measurement the particle size distributions in the solutions having different concentrations were monitored as well as the temperature influence on the diffusion coefficient. The DLS method provided the values of the gelling temperatures of the solutions at a concentration of 0,5 wt.% and 1,0 wt.%. Furthermore, the DLS microrheology method was used, where temperature dependences of viscoelastic characteristics of agarose solutions (40 – 30 °C) were also measured, from which the gelling temperatures of agarose solutions of 0,1 wt.% and 0,5 wt.% were evaluated. The classical rheology was also used in the work to compare the viscoelastic behaviour of the samples and to determine the gelation point of the agarose solutions. By this method were determined gelling temperatures for all studied concentration of agarose (0,1 wt.%, 0,5 wt.% and 1,0 wt.%). The DLS method was also used to monitor the interactions of sodium alginate with the addition of Ca^{2+} ions, these interactions were then also evaluated and discussed in the experimental part.

KEÚČOVÉ SLOVÁ

Agaróza, alginát, dynamický rozptyl svetla, gelácia, hydrogély, mikrorheológia, klasická reológia

KEY WORDS

Agarose, alginate, dynamic light scattering, gelation, hydrogels, microrheology, classical rheology

CANDRÁKOVÁ, S. *Využití metod rozptylu světla pro studium gelace hydrogelu*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2018. 38 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Michal Kalina, Ph.D..

PREHLÁSENIE

Prehlasujem, že som bakalársku prácu vypracovala samostatne a že všetky literárne zdroje som správne a úplne citovala. Bakalárska práca je z hľadiska obsahu majetkom Fakulty chemickej VUT v Brne a môže byť využitá ku komerčným účelom len so súhlasom vedúceho práce a dekana FCH VUT.

.....
Simona Candráková

Podakovanie:

Chcela by som sa poďakovať svojmu vedúcemu bakalárskej práce Ing. Michalovi Kalinovi Ph.D., za cenné rady, trpezlivosť a pomoc pri vypracovávaní bakalárskej práce. Tiež by som sa chcela poďakovať Ing. Tomášovi Velcerovi za pomoc pri reologických meraniach. Ďalej tiež patrí poďakovanie rodine a priateľom za podporu pri písaní bakalárskej práce.

OBSAH

1	ÚVOD	7
2	TEORETICKÁ ČASŤ.....	8
2.1	Gélové systémy	8
2.1.1	Vznik gélových štruktúr	8
2.2	Hydrogély	8
2.2.1	Chemické sieťovanie	9
2.2.2	Fyzikálne sieťovanie	10
2.2.3	Využitie hydrogéllov	11
2.3	Rozptyl svetla	11
2.3.1	Dynamický rozptyl svetla	11
2.3.2	Statický rozptyl svetla	12
2.3.3	Elektroforetický rozptyl svetla	12
2.4	Reológia	13
2.5	Mikroreológia	13
2.5.1	Aktívna a pasívna mikroreológia	14
2.5.2	DLS mikroreológia	14
2.6	Agaróza	14
2.6.1	Štruktúra agarózy	14
2.6.2	Agarózový hydrogél	15
2.6.3	Využitie agarózy	16
2.7	Alginát	16
2.7.1	Štruktúra alginátu	16
2.7.2	Využitie alginátu	17
2.8	Metódy charakterizácie a tvorby gélov	17
2.8.1	Sol-gélové metódy	18
3	SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY	19
4	CIELE PRÁCE	21
5	EXPERIMENTÁLNA ČASŤ	22
5.1	Chemikálie	22
5.2	Použité prístroje	22
5.3	Príprava vzoriek	22
5.3.1	Príprava vzoriek pre štúdium agarózy	22
5.3.2	Príprava vzoriek pre štúdium alginátu sodného	22
5.3.3	Príprava vzoriek pre reologické merania agarózy	22
5.4	Meranie difúzneho koeficientu za použitia PS častíc	23
5.5	Mikroreologické meranie agarózových roztokov za použitia PS častíc	23

5.6	Meranie pomocou autotitrátora	23
5.7	Reologické merania agarózy	23
6	DISKUSIA A VÝSLEDKY	24
6.1	Stanovenie gelácie agarózy	24
6.2	DLS mikroreológia.....	25
6.3	Reologické merania agarózy	29
6.4	Korelácia metód stanovenia bodu gelácie agarózy.....	30
6.5	Stanovenie gelácie alginátu sodného.....	31
7	ZÁVER.....	33
8	POUŽITÁ LITERATÚRA.....	34
9	ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV	37
9.1	Zoznam použitých skratiek	37
9.2	Zoznam použitých symbolov	38

1 ÚVOD

Hydrogély vďaka svojim unikátnym vlastnostiam našli v posledných rokoch uplatnenie v rôznych oblastiach ľudského života. K tomu, aby ich bolo možné využívať je potrebné vedieť charakterizovať ich vlastnosti a chovanie pri rôznych podmienkach. Jednou z vlastností, ktorá je sledovaná u gélov je bod, pri ktorom dochádza k jeho gelácii. Hydrogély majú vzhľadom na ich koncentrácie schopnosť gélovať pri určitých teplotách. Preto bude táto práca zameraná práve na štúdium gelácie roztokov o rôznych koncentráciách.

Koloidné častice síce nie sú obvykle pozorovateľné voľným okom, ale napriek tomu je známe, že svetlo absorbujú podobne ako pravé roztoky. Okrem tejto vlastnosti tu dochádza aj k rozptylu svetla, teda elektromagnetické častice - fotóny sa šíria všetkými smermi. Princíp rozptylu svetla závisí na rôznych frekvenciách dopadajúceho svetla, ktoré môže mať kratšiu alebo dlhšiu vlnovú dĺžku alebo tiež na veľkosti častíc, z ktorých sústava pozostáva. V tejto bakalárskej práci bude k detekcii bodu gelácie hydrogélou hlavnou využívanou metódou dynamický rozptyl svetla – DLS. Ďalšou klasickou metódou využívanou pri štúdiu vlastností gélov je klasická reológia. Táto metóda je využívaná hlavne kvôli možnosti analýzy reologických charakteristík v závislostiach na teplote. Jednou z alternatív sú aj mikrereologické merania, ktoré vďaka širšiemu rozsahu frekvencií dokážu vyhodnotiť merania presnejšie. V práci budú obidve vyššie uvedené techniky využité k zisteniu bodu gelácie.

2 TEORETICKÁ ČASŤ

2.1 Gélové systémy

Gélové systémy je možno označiť ako disperzné systémy vytvárajúce súvislú štruktúru, prestupujúcu celým disperzným prostredím. Táto priestorová sieť vzniká spájaním disperzných častíc vplyvom chemických a fyzikálnych síl. Systematicky je možné gély priradiť do skupiny disperzií tuhých látok v kvapaline. U týchto systémov môže dôjsť za určitých podmienok k prepojeniu disperzného podielu do trojrozmernej siete gélu, čo je možno označiť ako schopnosť tvoriť gély - gélovať. Prechádzať v gély môžu ako roztoky makromolekulárnych látok, tak aj lyofóbne sóly [1].

Gély je možno deliť:

1. Podľa typu zosieťovania na fyzikálne sieťované, kovalentné a vysoko organizované gély.
2. Podľa počtu fáz na jednofázové a dvojfázové.
3. Podľa obsahu disperzného prostredia lyogély, xerogély a aerogély.
4. Podľa obsahu vo vysušenom stave na reverzibilné a ireverzibilné.

Kovalentné gély sú tie, ktoré vznikajú na podklade chemických väzieb. Tieto gély nemôžu prechádzať späť na roztok polyméru, teda sú ireverzibilné. Fyzikálne sieťované gély sú tie, ktoré vznikajú spájaním polymérnych reťazcov pôsobením fyzikálnych síl alebo vzájomným prepletením jednotlivých reťazcov. Hovoríme o reverzibilných géloch, kedy gél môže prejsť do pôvodného stavu, tento jav sa nazýva sôl-gél prechod. Vysoko organizované gély tvoria niektoré tenzidy a ich zmesi vo vode s dlhými reťazcami mastných alkoholov. Ich štruktúry môžu byť lamelárne, kubické, hexagonálne alebo micelárne [2].

Jednofázové gély vznikajú z polymérov interakciou s vhodnou kvapalinou. Najčastejšie je to voda alebo zmes vody s ethanolom či inými alkoholmi. Dvojfázové gély alebo tiež gély anorganické sú systémy tvorené pevnými časticami koloidnej veľkosti dispergovanými v kvapaline [2].

Lyogély sú systémy, ktoré obsahujú disperzné prostredie aj dispergovaný podiel. Xerogély sú systémy obsahujúce len zosieťovaný dispergovaný podiel. Vznikajú vysušením lyogélov, teda odstránením disperzného prostredia. Aerogély sú charakterizované mimoriadne nízkou hustotou, pevnosťou a vynikajúcimi tepelne izolačnými vlastnosťami [2].

2.1.1 Vznik gélových štruktúr

Gelácia je proces spájania molekúl kovalentnými väzbami alebo špecifickej agregácie molekúl na základe fyzikálnych väzieb. Pri gelácii sa môže kvapalná zložka alebo fáza vypudzovať na základe kontrakcie vytvorenej štruktúry. Gél môže vzniknúť už pri syntéze polyméru sieťovaním. Môže k nemu dôjsť pridaním viacfunkčnej zložky do polymeračnej alebo polyadičnej reakcie. Chemickým činidlom je možno sieťovať už vytvorený gél tvorený fyzikálnymi väzbami. Je tiež možno spájať makromolekuly v dostatočne koncentrovanom roztoku (roztoky albumínov a aldehydy, termická denaturácia albumínu, tvorba solných mostíkov vápenatými kationmi medzi molekulami alginátu sodného) [3].

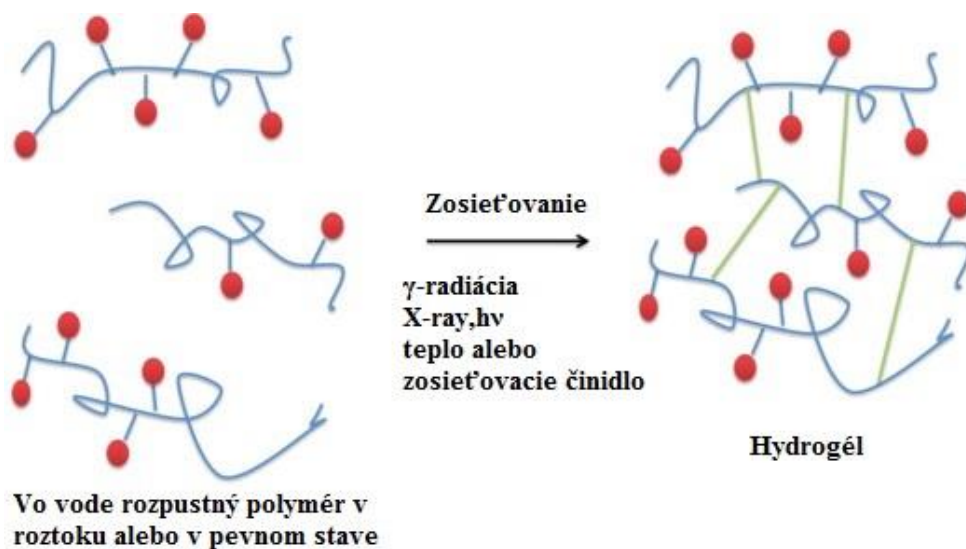
2.2 Hydrogély

Hydrogély sú najčastejšie tvorené sieťovanými hydrofilnými polymérmi. Majú vysoký obsah vody (až 98%) a môžu mať pórovitú štruktúru s veľkosťou pórov medzi 10 – 100 µm (makroporézny hydrogél) [4].

Obvykle nie sú homogénne, vyskytujú sa v nich oblasti s nízkym obsahom vody a tiež oblasti s vysokým percentom sieťovanej štruktúry. V niektorých prípadoch, v závislosti na zložení rozpúšťadla a na jeho koncentrácii behom procesu gelácie môže dôjsť k oddeleniu fáz a vytvorí sa vodou naplnené „priestory“ alebo „makropóry“ [5].

Hydrofilné gély sú tie, v ktorých sa vyskytujú siete polymérnych reťazcov, pre ktoré je voda disperzné prostredie. Majú istú mieru pružnosti veľmi podobnú k prírodným tkanivám vzhľadom k ich veľkým objemom vody. Schopnosť hydrogélů absorbovať vodu vychádza z hydrofilných funkčných skupín naviazaných na polymérnu kosťru, zatiaľ čo ich odolnosť proti rozpusteniu vzniká z priečných väzieb medzi reťazcami siete. Počas posledných dvoch desaťročí, prírodné hydrogély boli postupne nahradené syntetickými hydrogélmi, ktoré majú dlhú životnosť, vysokú schopnosť absorpcie vody a vysokú pevnosť gélu. Našťastie, syntetické polyméry majú zvyčajne dobre definované štruktúry, ktoré môžu byť upravené tak, aby sa získala schopnosť rozložiteľnosti a funkčnosti. Hydrogély môžu byť syntetizované z čisto syntetických zložiek [6].

Hydrogély môžu byť syntetizované niekoľkými klasickými chemickými spôsobmi. Medzi ne patria jednokrokové postupy, ako je polymerizácia a paralelné vytváranie priečných väzieb medzi multifunkčnými monómérmi, ako aj viac krokové postupy zahŕňajúce syntézu polymérnych molekúl, ktoré majú reaktívne skupiny, a ich následné zosieťovanie, prípadne aj reakciu polymérov s vhodnými sieťovacími činidlami [6].



Obrázok 1: Syntéza hydrogélů zosieťovaním vo vode rozpustných polyméroch

Chemické alebo fyzikálne zosieťovanie hydrofilných polymérov sú typické postupy pre formovanie hydrogélů, ich fyzikálno-chemické vlastnosti sú veľmi závislé na type zosieťovania a hustote zosietenia a tiež na hmotnosti a chemickom zložení molekulárnych polymérov [7,8].

2.2.1 Chemické sieťovanie

Chemické sieťovanie je postup, ktorým sa vytvárajú stabilnejšie hydrogély s lepšimi mechanickými vlastnosťami, než majú hydrogély fyzikálne sieťované. Chemického sieťovania môže byť dosiahnuté rôznymi reakciami, pri ktorých medzi atómami na polymérnom reťazci vznikajú kovalentné a iónové väzby [9].

Chemicky sieťované gély môžu byť získané radikálovou polymerizáciou monomérov s nízkou molekulovou hmotnosťou v prítomnosti zosieťovacích činidiel. Hydrogély môžu byť tiež získané radikálovou polymerizáciou vo vode rozpustných polymérov derivatizovaných polymerovateľnými skupinami. Ďalšou možnosťou chemického zosieťovania je zosieťovanie chemickou reakciou komplementárnych skupín. Kovalentné väzby medzi polymérnymi reťazcami sa môžu vytvoriť reakciou funkčných skupín s komplementárnou reaktivitou ako napríklad amino-karboxylová kyselina alebo isokyanátovou reakciou či formáciou Shiffovou bázou. Iný spôsob je zosieťovanie s aldehydmi, kedy vo vode rozpustné polyméry s hydroxylovými skupinami ako napríklad polyvinylalkohol môžu

byť zosieťované za použitia glutaraldehydu. Tento typ chemického zosieťovania závisí vždy od konkrétneho polyméru a podmienkach prostredia ako napríklad nízka či vysoká teplota, pH a iné. Chemické sieťovanie pomocou adičných reakcií je tiež možnosť, akou môžu byť vo vode rozpustené polyméry prevedené do štruktúry hydrogél. Pri týchto reakciách sa využívajú sieťovacie činidlá, ktoré reagujú s funkčnými skupinami polymérov [10].

Kondenzačné reakcie medzi hydroxylovými skupinami alebo amínmi s karboxylovými kyselinami či derivátmi sa často používajú pre syntézu polymérov, čím sa získajú polyestery a polyamidy. Tieto reakcie môžu byť využité aj pre syntézu hydrogél. Veľmi účinné činidlo pre zosieťovanie vo vode rozpustných polymérov s amidovými väzbami je N,N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethyl karbodiimid (EDC). Využitie nachádza pri príprave želatínových hydrogél. V priebehu reakcií je pridávaný N-hydroxysukcinimid, ktorý potláča prípadné vedľajšie reakcie a taktiež vďaka nemu je možná lepšia kontrola nad hustotou zosieťovania gélov [10].

Vysoké energie žiarenia, najmä gama a elektrónového lúča môžu byť použité na polymerizáciu nenasýtených zlúčenín, to znamená, že napríklad vo vode rozpustné polyméry s vinylovými skupinami môžu byť prevedené na hydrogély za použitia vysoko energetického žiarenia [10].

Zosieťovanie pomocou enzýmov je posledná z metód chemického sieťovania. Táto metóda bola použitá v súvislosti so syntézou polyetylénglykolových hydrogél (PEG-hydrogél) za použitia enzýmu transaminázy [10].

2.2.2 Fyzikálne sieťovanie

Fyzikálne siete v hydrogélach sú tvorené slabými fyzikálnymi väzbami. Väzby, ktoré sa tu objavujú, sú predovšetkým vodíkové mostíky, Van der Waalsove sily alebo hydrofóbne interakcie. Prostredníctvom týchto slabých neväzbových interakcií sa makromolekulárne reťazce spájajú v uzlových bodoch. Podľa intenzity a štruktúry fyzikálnej siete potom rozlišujeme silne a slabo viazané gély. Silne viazané gély sú spojené v uzlových bodoch pevne a chovajú sa teda podobne ako chemicky sieťované gély, tieto gély sú pružné. Na rozdiel od slabo viazaných, ktoré sú elastické len pri nízkych hodnotách mechanického napätia. Akonáhle dosiahnu a prekročia statickú medzu toku, začnú sa nenávratne deformovať [9].

Fyzikálne zosieťované hydrogély môžu byť syntetizované iónovými interakciami, formovaním do tzv. kryštalických dómen, stereokomplexnou formáciou, hydrofóbnymi interakciami polysacharidov, proteínovými interakciami alebo vodíkovými mostíkmi [9].

Iónovými interakciami môžu byť hydrogély zosieťované za miernych podmienok pri izbovej teplote a fyziologickej hodnote pH. Tento proces zosieťovania vyžaduje prítomnosť iónovej skupiny v polyméri. Príkladom tejto metódy je zosieťovanie polysacharidu alginátu pomocou vápenatých iónov. Stereokomplexná formácia je založená na zosieťovaní oligomérov kyseliny mliečnej o opačnej chiralite. Polysacharidy akými sú chitosan, dextran, pullulan a karboxymethylkurdlan sú v literatúre pripravované fyzikálnym zosieťovaním pomocou hydrofóbných interakcií. Tieto polyméry bobtnajú a absorbujú vodu, ktorá tvorí hydrogél [10].

Proteínové interakcie zahŕňajú blokové kopolyméry, ktoré obsahujú opakujúce sa elastínové a hodvábu podobné bloky, ktoré sa nazývajú prolástiny. Sú to tekuté roztoky, ktoré môžu byť pretransformované z roztoku na gél za fyziologických podmienok vďaka kryštalizácii hodvábu podobných oblastí [10].

Stabilizácia trojrozmernej siete pomocou vodíkových mostíkov vzniká u gélov tvorených z polyakrylovej kyseliny (PAA) alebo z polymetakrylovej kyseliny (PMA) a polyetylénglykolom (PEG). U týchto gélov vzniká vodíková väzba medzi kyslíkom z PEG a karboxylovou skupinou z PMA (resp. PAA). Táto interakcia umožňuje absorbovať kvapaliny a bobtnať pri nízkych hodnotách pH. Vďaka tejto interakcii je tento systém transformovaný v gél [10].

Kryštalizácia zahŕňa zmrazovaco-rozmrazovací proces a vytvára silný a vysoko elastický gél. PVA (polyvinylalkoholové) hydrogély môžu byť fyzikálne zosieťované opakovanými (zmrazovaco-rozmrazovacími) metódami [10].

2.2.3 Využitie hydrogelov

Hydrogély sú široko používané v oblasti elektroforézy, bioseparácií, proteomiky, chromatografie a tkaninového inžinierstva. Sú dobre známe v potravinách a medicíne ako absorbenty v jednorázových plienkach, sú tiež známe ako filtre na čistenie vody a používajú sa aj ako separačné materiály pre chromatografiu či elektroforézu. Zaujímavé sú tiež v oblasti kontrolovaného uvoľňovania liečiv [11].

V skutočnosti existuje mnoho prírodných polymérov, v ktorých roztok môže gélovať za vhodných podmienok. V potravinárstve je používanie gélov veľmi bežné napr.: zmrzlina, želé, puding a džem. Všetky sú založené na gelácii, okrem nich existujú aj správy o využití prírodných polymérov v keramických procesoch tvarovania [12].

2.3 Rozptyl svetla

Rozptyl svetla môžeme charakterizovať ako vychýlenie svetelných lúčov do rôznych smerov. Princípom elastického rozptylu svetla je docielenie menšej koncentrácie základného lúča v dôsledku optických vlastností malých častíc. Čo sa týka metód rozptylu svetla, môžeme ich rozdeliť na dynamický, statický a elektroforetický rozptyl svetla [13].

2.3.1 Dynamický rozptyl svetla

Dynamický rozptyl svetla (DLS), takisto nazývaný ako kvazielastický rozptyl svetla (QELS) alebo fotónová korelačná spektroskopia (PCS), je metóda vhodná na meranie veľkosti častíc v submikrónovej oblasti. Základom tejto neinvazívnej techniky je meranie fluktuácie intenzity rozptýleného svetla pohybujúcimi sa časticami vo vzorku. Tieto fluktuácie súvisia s interferenčným zoslabovaním a zosilňovaním svetla rozptýleného na nestacionárnych časticách disperzného podielu, podliehajúcich Brownovmu pohybu. Čím rýchlejšie sa častice pohybujú, tým rýchlejšie sa intenzita rozptýleného svetla mení. Rýchlosť týchto zmien je teda priamo závislá na pohybe molekuly [13].

Pri tejto metóde sa najskôr zmeria difúzny koeficient častíc, ten v čisto viskóznom (Newtonovskom) systéme môžeme zapísať ako funkciu veľkosti častíc, viskozity rozpúšťadla a teploty za použitia Stokes-Einsteinovej rovnice:

$$D = \frac{k_B T}{3\pi\eta a} \quad (1)$$

kde k_B je Boltzmannova konštanta, T je teplota, a je priemer častíc, η je viskozita rozpúšťadla.

Obvykle sú výsledky získané z DLS merania v primerane dobrej zhode s výsledkami elektrónového mikroskopu. Určité nezrovnalosti vo výsledkoch môžu byť prisúdené buď rozdielu medzi hydrodynamickým polomerom (ktorý môže zahŕňať solvatačný obal či naadsorbovanú vrstvu na povrchu častíc) a skutočným polomerom alebo zmenám vo veľkosti častice vznikajúcim pri príprave vzorky pre elektrónový mikroskop (vysušanie) či zmenám pochádzajúcim od ožarovania elektrónmi. V prípade polydisperzných systémov sa musí vziať do úvahy pohyb častíc rozdielnych veľkostí a korelačná funkcia má potom zložitejšiu formu [14].

Získaná priemerná veľkosť koloidných častíc je vážená podľa piatej mocniny (tzv. Z-average), takže veľké častice sú v tejto hodnote veľmi nadhodnotené a dokonca sa môže u niektorých prístrojov stať, že frakcia malých častíc sa úplne stratí vo veľkej intenzite žiarenia rozptýleného na väčších časticách. Rozsah metódy je oproti sedimentačným metódam výrazne iný - dolná hranica sa dnes pohybuje okolo 0,5 nm a maximálna potom okolo 4 – 6 μm (väčšie častice už nepodliehajú Brownovmu pohybu) [14].

Nespornými výhodami DLS je rýchly a jednoduchý priebeh merania, ktoré zvyčajne trvá od niekoľko desiatok sekúnd do 10 minút. Metóda je absolútna (kalibrácia pomocou štandardov o známej veľkosti a distribúcii nie je nutná), analýza veľkosti častíc vyžaduje len veľmi malé množstvo vzorky (v ráde mikrolitrov) a merné zariadenie je komerčne dostupné s automatizáciou, vrátane analýzy dát [14].

2.3.2 Statický rozptyl svetla

Statický rozptyl svetla (SLS) je neinvazívna metóda používaná na charakterizáciu molekúl v roztoku. Častice vo vzorke sú osvetlené svetelným zdrojom, ako je napríklad laser, pričom častice rozptyľujú svetlo do všetkých smerov. Základ je tvorený meraním intenzity rozptýleného svetla v určitom časovom rozmedzí, ktorá je selektovaná podľa koncentrácie [15].

Na rozdiel od merania časovo závislých fluktuácií intenzity rozptylu, statický rozptyl svetla využíva časovo spriemerované intenzity rozptýleného svetla. Intenzita svetla rozptýleného za určitú dobu (10 až 30 sekúnd) sa kumuluje pre rad koncentrácií vzorky. Tento čas na spriemerovaní odstráni inherentné fluktuácie signálu, z toho dôvodu je výraz "statický rozptyl svetla" [16].

Ak je zameraná uhlová závislosť rozptýleného svetla, je možné stanoviť veľkosť molekúl. Stanoví sa stredný kvadratický polomer, nazývaný aj gyračný polomer. Stredný kvadratický polomer je spojený s geometrickým rozložením hmoty, ktorá je okolo ťažiska molekuly. Pomocou statického rozptylu svetla je tiež možné určiť molekulovú hmotnosť [17].

2.3.3 Elektroforetický rozptyl svetla

Je založený na princípe kedy cez vzorku, ktorá je v kapilárnej cele prechádza laser a svetlo rozptýlené pohybujúcimi sa časticami je frekvenčne posunuté oproti referenčnému laserovému paprsku, ktorý neprechádza vzorkou. Aplikuje sa elektrické pole – nabité častice putujú k elektróde s opačným nábojom [18].

Elektrický náboj na povrchu koloidnej častice spôsobí usporiadanie iónov v okolitej kvapaline do štruktúry nazývanej elektrická dvojvrstva. Základný model tejto dvojvrstvy vypracoval Helmholtz, upresnenie potom priniesol Sternov model. Ten rozdeľuje druhú polovicu elektrickej dvojvrstvy s vyrovnávacím iónmi na dve časti - kompaktnú a difúznú. Približne na hranici medzi kompaktnou a difúznou časťou elektrickej dvojvrstvy zostáva nevykompenzovaný náboj, ktorý je o hodnote určujúcej elektrokinetický (zeta) potenciál. Tento potenciál je zodpovedný za existenciu tzv. elektrokinetických javov – elektroforézy, elektroosmózy, potenciálu prúdenia a sedimentačného potenciálu [1]. Frekvenčný posun svetla je priamo úmerný elektroforetickej mobilite častíc, vďaka ktorej je možné vypočítať hodnotu zeta potenciálu [18].

Pre výpočet zeta potenciálu je využívaná tzv. Henryho rovnica:

$$U_e = \frac{2\varepsilon\xi f(\kappa a)}{3\eta} \quad (2)$$

kde U_e je elektroforetická mobilita častíc, ε je dielektrická konštanta, η je viskozita rozpúšťadla, $f(\kappa a)$ je Henryho funkcia a ξ je hodnota zeta potenciálu. Disperzné systémy so zeta potenciálom medzi -10 mV a +10 mV sú považované za približne neutrálne, zatiaľ čo disperzné systémy so zeta potenciálom väčším než +30 mV alebo menším než -30 mV sú považované za silne kationové alebo aniónové. Ak majú všetky častice v suspenzii veľký negatívny alebo pozitívny zeta potenciál, tak majú tendenciu odpudzovať sa od seba. Ak majú častice nízke absolútne hodnoty zeta potenciálu, tak medzi časticami nie je dostatočný odpor, čo znamená, že sa budú spájať a flokulovať. Všeobecný interval zeta potenciálov medzi stabilnými a nestabilnými suspenziami je daný od -30 mV do +30 mV. Suspenzie s časticami, ktorých hodnoty zeta potenciálu sú mimo tohto intervalu sú považované za stabilné [18].

2.4 Reológia

Reológia je metóda zaoberajúca sa deformáciami a tokom materiálov. Pričom deformácii podlieha každý materiál pri pôsobení deformačnej sily. Ak je eliminovaná táto sila, tak sa hmota vráti do pôvodného stavu. Takýto postup nastáva vďaka elastickej zložke, avšak k úplnej relaxácii kvôli viskóznjej zložke už nedôjde. Ak sa deformácia zväčšuje s dobou pôsobenia sily, materiál tečie. Tento proces je vysvetlený materiálovou vlastnosťou, ktorá sa nazýva viskozita. Tá nás informuje o tom, ako veľké má kvapalina trenie. Z toho vyplýva, že materiály, ktoré majú menšiu viskozitu tečú ľahko a tie, ktoré majú vyššiu viskozitu, tečú horšie. Preto materiály sú schopné aj iných javov, než len deformácie [19].

Väčšina materiálov je však viskoelastická. Termín viskoelasticita je používaný na opis správania látok, ktoré spadajú medzi klasické extrémne elastického Hookovského telesa a správania viskóznjej Newtonovskej kvapaliny [20,21].

Podľa Newtonovho zákona je tangenciálne napätie úmerné gradientu rýchlosti medzi vrstvami tekutiny:

$$\tau_{xy} = -\eta \frac{du_x}{dy} \quad (3)$$

kde τ_{xy} je tangenciálne napätie pôsobiace v smere osy x v rovine kolmej k ose y , u_x je rýchlosť toku v smere osy x , du_x/dy je gradient rýchlosti. Konštanta úmernosti η sa nazýva dynamická viskozita. Podiel dynamickej viskozity a hustoty je kinematická viskozita, ktorá sa značí symbolom ν . U všetkých plynov a u väčšiny kvapalín je Newtonov vzťah naozaj splnený (newtonovské tekutiny). Kvapalinám, u ktorých viskozita závisí na rýchlostnom gradiente hovoríme nenewtonovské kvapaliny [20,21].

Hookov zákon elasticity sa zase zaoberá silami, ktoré pôsobia na teleso v ťahu a tlaku a tiež dôsledkami ich pôsobenia. Ak sú hodnoty normálového napätia nižšie, než je medza úmernosti σ_u , je normálové napätie σ priamo úmerné relatívnemu predĺženiu ε :

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \quad (4)$$

kde E je konštanta úmernosti, tiež nazývaná Youngov model alebo modul pružnosti v ťahu [22].

Existuje veľké množstvo testov, ktorými sa sleduje viskoelasticita. Príkladom môže byť test amplitúdový alebo frekvenčný. U prvého zmieneneho testu sa mení amplitúda deformácie v %, zatiaľ čo frekvencia je rovnaká. Sleduje sa pri akej hodnote amplitúdy deformácie sú porušené väzby, vďaka ktorým sú hydrogély v pevnej štruktúre. Teda sledujeme závislosť viskoelastických modulov na amplitúde deformácie. U frekvenčného testu sa naopak mení frekvencia oscilácií a amplitúda deformácie je konštantná, u tohto testu sledujeme závislosť viskoelastických modulov na frekvencii oscilácií. Látku môžeme charakterizovať podielom elastického (G') a viskózného (G'') modulu, táto veličina sa nazýva stratový uhol:

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'} \quad (5)$$

Ak je podiel menší než 45° , tak sa jedná o tuhú látku, ak je stratový uhol väčší než 45° , tak hovoríme o kvapalnej látke [20].

2.5 Mikroreológia

V súčasnej dobe sa do popredia pomaly dostáva technika nazývaná mikroreológia. Táto technika má oproti klasickej makroreológii vyššiu schopnosť merania nehomogénnych materiálov a nemá žiadne obmedzenie, ktoré by sa týkalo rozsahu meraných frekvencií. Výhodou je tiež fakt, že pre analýzu stačí malé množstvo vzorku (do 1 ml) [23].

Zabýva sa javmi, ktoré sa podieľajú na rozptýlení mechanickej energie v materiáloch na úrovni mikrometrov alebo submikrometrov a je využívaná k preskúmaniu mechanických vlastností pomocou pohybu častíc v komplexných tekutinách. Pohyb častíc je zaznamenávaný technikami, ktoré sú založené na rozptyle svetla alebo mikroskopii s vysokým rozlíšením. Častice môžu byť vložené alebo môžu byť súčasťou skutočného systému. Podľa spôsobu pohybu častíc rozlišujeme aktívnu a pasívnu mikroreológiu [23].

Analyzovaním pohybu častíc môžeme získať kvantitatívne informácie o reologických vlastnostiach komplexných tekutín (emulzie alebo gély). Tiež sa zistilo, že mikroreologické údaje môžu byť zhodné s mechanickými makroreologickými meraniami [23].

2.5.1 Aktívna a pasívna mikroreológia

Techniky používané v mikroreológii sú obvykle rozdelené do dvoch tried: aktívnych a pasívnych. Aktívne sú tie, u ktorých sa musí manipulovať s časticami pôsobením vonkajších síl. Sú určené pre flexibilnejšie vzorky. Pasívne sú založené na sledovaní pohybu častíc tzv. traceru (častice o presne definovanej veľkosti), ktoré sú dodatočne vložené do analyzovaného vzorku. Tracer sa pohybuje v sledovanom vzorku na základe Brownovho pohybu. Táto technika je vhodná hlavne pre meranie vzoriek o nízkej viskozite. Najviac používané pasívne techniky sú jednočasticová, tiež nazývaná videomikroreológia, dvojčasticová mikroreológia, difúzna vlnová spektrometria a dynamický rozptyl svetla [24].

2.5.2 DLS mikroreológia

DLS mikroreológia využíva dynamický rozptyl svetla na sledovanie náhodného pohybu traceru (alebo tiež sondy) v meranom vzorku (Brownov pohyb). DLS mikroreológia umožňuje analyzovať reologické charakteristiky materiálu v širšom rozsahu frekvencií, než pri klasickej reológii. Vzhľadom k detekčným limitom metódy musí byť veľkosť sledovaných častíc v rozmedzí 0,5 nm až 6 μ m. [25,26,27].

Pri metóde DLS je meraná autokorelačná funkcia (ACF) popisujúca pohyb častíc sondy vo vzorke. ACF môže byť definovaná ako funkcia stredného kvadratického posunu (MSD) rozptýlených častíc. DLS mikroreológia vyžaduje prídanie častíc o známej veľkosti do roztoku, ktorý je predmetom záujmu, za účelom merania ACF. Z nasledujúcej rovnice vyplýva vzťah medzi MSD časticami a ACF rozptýleného svetla:

$$\langle \Delta r^2(\tau) \rangle = \frac{6}{q^2} [\log(g_1(0)) - \log(g_1(\tau))] \quad (6)$$

kde $g_1(0)$ je hodnota autokorelačnej funkcie a q je rozptylový vektor, ktorý môže byť daný vzťahom:

$$q = \frac{4\pi n}{\lambda} \sin(\theta/2) \quad (7)$$

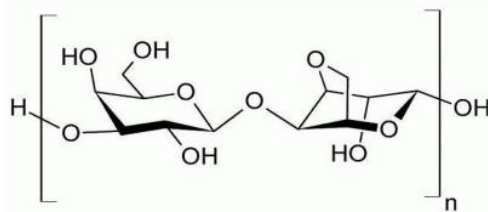
kde n je index lomu skúmanej látky, λ je vlnová dĺžka svetla a θ je uhol rozptylu. Korelačný čas τ je príbuzný s časom t podľa $\tau = 2\pi t$ [28].

Viskoelastické moduly sú vypočítané s použitím zovšeobecnenej formy Stokes-Einsteinovej rovnice (1), ktorá vyžaduje Fourierovu transformáciu na hodnotu MSD meraných častíc. [25,26,27].

2.6 Agaróza

2.6.1 Štruktúra agarózy

Agaróza je lineárny polysacharid galaktan, obsahujúci na každých deväť zvyškov D-galaktózy jeden zvyšok L-galaktózy s esterovo viazanou kyselinou sírovou na uhlíku C6. D-galaktózové jednotky sú viazané (1 \rightarrow 3) glykozidovými väzbami, L-galaktózové jednotky sú spojené so štvrtým uhlíkom zvyšku D-galaktózy [29].



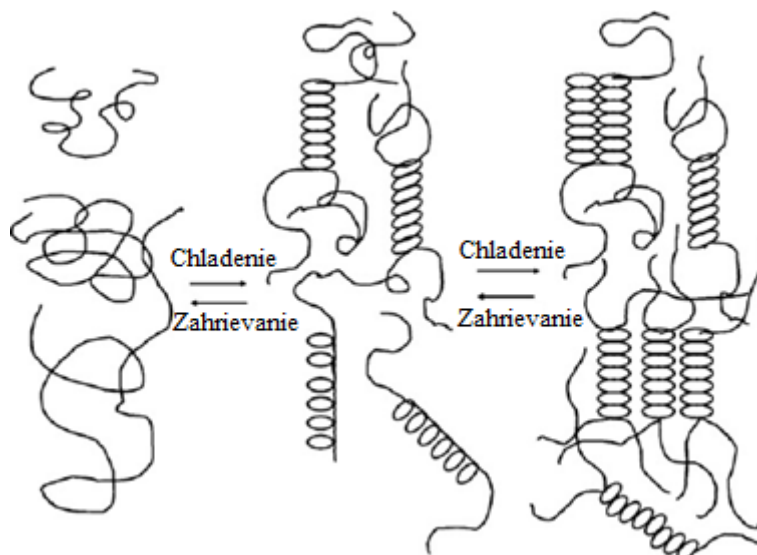
Obrázok 2: Štruktúrny vzorec agarózy

Agaróza je jednou z dvoch hlavných súčastí polygalaktozidu agaru, ďalším komponentom je agaropektín. Agaróza je gélová frakcia agaru a tvorí opakujúce sa striedavo β -D-galaktopyranozilové a 3,6-anhydro- α -L-galaktopyranozilové skupiny. Agar sa získava z morskej červenej riasy rodu *Rhodophyta*. Agaropektín má podobnú štruktúru, ale obsahuje 5 – 10 % síranových esterov a iné zvyšky. Agaróza je rozpustná vo vode za zvýšenej teploty. Obmedzená rozpustnosť agarózy podľa teploty sa využíva pri príprave agarózových termoreverzibilných gélov. Agaróza je v organických rozpúšťadlách obvykle nerozpustná a nemôže tvoriť gély. Charakteristickým rysom agarózy je, že gély ukazujú masívnu teplotnú hysteréziu, ktorá je priradená vzniku veľkých agregátov. Tie zostávajú stabilné pri teplotách omnoho vyšších, než tie na ktoré sa jednotlivé skrutkovice formujú pri chladení [30].

Polysacharid môže prijať veľké množstvo vody vďaka dutine, ktorú vytvára štruktúra skrutkovice. Stabilný gél vzniká, keď skupiny týchto reťazcov vytvárajú dvojité skrutkovicu. Agaróza je prírodná látka a nie je toxická. Jej gély sú stabilné a môžeme ich uchovávať po dobu jedného roka. Zaujímavou vlastnosťou agarózy je tzv. pamäť gélu, ktorá sa prejavuje ak zahrejeme agarózu vo vode na teplotu 85 °C získame roztok, ktorý sa ochladením na teplotu okolo 40 °C mení na gél. Ak by sme tento proces zopakovali, teploty by sa trochu líšili kvôli štruktúre agarózy, konkrétne kvôli vodíkovým mostíkom [31].

2.6.2 Agarózový hydrogél

Ako už bolo zmienené vyššie, agaróza je rozpustná len za zvýšenej teploty. Pri chladení vodného roztoku agarózy dochádza postupne k vytvoreniu trojrozsmernej gélovej formy agarózy. Teplota gelácie sa pohybuje približne od 25 °C do 35 °C pre rôzne typy prípravy. Pripravený agarózový gél je potom stabilný v gélovej forme podľa typu použitej agarózy asi do 90 °C. Agaróza tvorí termoreverzibilný gél, ktorý obsahuje hrubé zväzky agarózových reťazcov, ktoré sú pri sebe pripútané vodíkovými mostíkmi (póry držiace vodu) [30].



Obrázok 3: Gelácia hydrogélů

2.6.3 Využitie agarózy

Agaróza sa vo forme gélu používa na prípravu kultivačných pôd v mikrobiológii, ďalej ako nosič pri elektroforéze a spolu s karagenanom ako materiál pre imobilizáciu enzýmov či buniek a pri výrobe potravín. Široko sa používa ako matica v immunoelektroforéze, imunodifúzii, gélovej filtrácii a afinitnej chromatografii [31].

Hlavným využitím agarozového gélu je elektroforetická separácia, ide hlavne o elektroforézu nukleových kyselín (DNA) na bázi agarozového gélu. Vďaka svojej veľkosti pórov a dobrej pevnosti gélu môžeme agarózu využiť aj ako antikonekčné médium pre elektroforézu DNA veľkých bielkovinových molekúl [31].

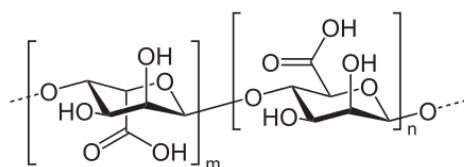
Agarózový gél sa používa pri hodnotení zložení potravín a na základe svojich výborných vlastností sa používa aj v mnohých iných odvetviach. Využitie agarozového gélu siaha až do oblasti spotrebného priemyslu napríklad potravinárstvo, farmácia, biomedicínske aplikácie a tiež sa uplatňuje ako purifikačné médium. Pre mechanickú analýzu sa najčastejšie využívajú potraviny biopolymérnych gélov, pretože ich stavba nie je tak zložitá ako štruktúra pevných potravín [31].

2.7 Alginát

2.7.1 Štruktúra alginátu

Alginát je lineárny polysacharid tvorený α -L-guluronovými a β -D-mannurovými zvyškami nepravidelne usporiadanými pozdĺž lineárneho reťazca. Tento vzor obsahuje tri druhy polymérnych segmentov: jeden je zložený prevažne z jednotiek kyseliny D-mannurovej, druhý z jednotiek kyseliny L-guluronovej a tretí pozostáva striedavo zo zložiek kyseliny D-mannurovej a kyseliny L-guluronovej [33].

Tento anionaktívny polysacharid nesie v roztoku záporný náboj a môže byť sieťovaný kladnými kationmi či viacväzbovými skupinami [34].



Obrázok 4: Štruktúrny vzorec alginátového polyméru

2.7.2 Využitie alginátu

Alginát je prirodzene vyskytujúci sa aniónový polymér, ktorý je možno zvyčajne získať z hnedých morských rias (*Phaeophyceae*). Bol intenzívne skúmaný a použitý pre mnoho biomedicínskych aplikácií, vzhľadom k jeho biokompatibilite, nízkej toxicite, relatívne nízkej cene, a miernej želatinácii prídavkom dvojmocných kationov. Alginát je druh želirujúceho polysacharidu, ktorý môže byť rozpustený vo vode pri izbovej teplote a potom zrsolovateľý reakciou bivalentných kovových iónov. Najbežnejšou metódou na prípravu hydrogélů z vodného roztoku alginátu je kombinovať roztok s iónovými sieťovacími činidlami, ako sú napríklad dvojmocné kationy Ca^{2+} . Materiálové vlastnosti alginátu sú veľmi citlivé na druhy a koncentráciu prítomných iónov. Vápnik je najviac používaný kation pri príprave alginátových perličiek v širokej škále aplikácií: najmä v enkapsulácii buniek, ktoré sa potom používajú ako biokatalyzátory alebo na uvoľnenie zachytených biomolekúl, ako sú pesticídy, drogy, konzervačné látky, atď. Býva široko používaný v potravinárstve a tradičných keramických formovacích procesoch, ktoré boli použité v procese vstrekovania [32].

2.8 Metódy charakterizácie a tvorby gélov

Hydrogély môžu byť vytvarované chemickým alebo fyzikálnym sieťovaním, polymerizáciou a radiačným zosieťovaním. Výskum na hydrogélůch s ohľadom na podávanie liekov bol rozsiahly v posledných niekoľkých desaťročiach kvôli ich biokompatibilným vlastnostiam a ľahkej ovládateľnosti prípravy [34].

Mimoriadne zaujímavý a dôležitý je polymérny systém hydrogélův tvoriaci roztok o jednoduchej fázi prechodu (sól-gél prechod) vo vode bez akýchkoľvek chemických reakcií a vonkajšej stimulácie. Tento systém poskytuje jednoduchosť a bezpečnosť v in vitro situáciách. Hlavné metódy, ktoré sa používajú na charakterizáciu a vyčíslenie množstva voľnej a viazanej vody v hydrogélůch sú diferenciálna skenovacia kalorimetria (DSC) a nukleárna magnetická rezonancia (NMR). Termogravimetrická analýza a sól-gél analýza sa používajú aj na potvrdenie vzniku sieťovaných gélových štruktúr hydrogélů [35].

Diferenciálna skenovacia kalorimetria je jednou z metód termickej analýzy a jej merania poskytujú kvalitatívne aj kvantitatívne informácie o fyzikálnych a chemických zmenách. Tie zahŕňajú endotermické procesy ako teplo vtekajúce do vzorky alebo exotermické procesy prúdenie tepla von zo vzorky či meranie tepelnej kapacity pri vzniku skleneného prechodu [35].

Nukleárna magnetická rezonancia môže byť použitá pre sledovanie cesty počas reakcie gelácie alginátu sodného iónmi vápnika. Z teórie je možné vypočítať koeficient difúzie iónov vápnika v reakčnej zóne a táto hodnota sa používa pre nahliadnutie do štruktúry vytvoreného gélu. Bolo ukázané, že difúzia iónov vápnika cez gél alginátu vápenatého závisí od koncentrácie vápnikových iónov v systéme, a tým aj na rozsahu elektrostatických interakcií a veľkosti pórov gélu. Prídavok soli zahŕňa nešpecifické väzbové miesta, čo má za následok takmer neutrálnu gélovú maticu, cez ktorú je vápnik rozptýlený. Preto je zníženie koeficientu difúzie vápnika najmä v dôsledku obštrukcie zo siete gélu. Vzhľadom na to, že existujúce chemické znalosti, spolu s novými poznatkami sú k dispozícii z týchto štúdií, predpokladá sa, že by malo byť teraz možné prispôbiť, aby z gélu (so špecifickými vlastnosťami, s riadeným uvoľňovaním z daného súboru reakčných podmienok a so zníženým koeficientom difúzie iónov vápnika) bol získaný kvalitatívny odhad veľkosti póru od zlomku objemu polyméru. Táto technika spolu s technikou nulového bodu môže byť použitá k štúdiu šírenia akéhokoľvek substrátu, ktorý je spojený s jeho prítomnosťou [35].

Gélová permeačná chromatografia v spojení s viac uhlovým laserovým rozptylom svetla (GPC - MALLS) je široko používanou metódou na stanovenie molekulárneho rozdelenia a parametrov polymérneho systému. Hydrogél v polymérnom systéme možno kvantifikovať pomocou tejto techniky. Táto technika je široko používaná v kvantifikácii hydrogélův niekoľkých hydrokoloidov, akými sú arabská guma, želatína a pullulan [37].

Jedným z posledných trendov vo výskume hydrogélů je fotopolymerizačná formácia alebo fáza prechodu. Formácia hydrogélů robí viac reálne aplikovanie hydrogélů pre makromolekulárne dodávanie liečiva, tkanivové bariéry a tkanivové inžinierstvo [34].

Skúmané boli napríklad syntetické sieťované polyméry polyetylénoxid (PEO), polyvinyl pyrrolidín (PVP), kyselina polymliečna (PLA), polyetylén glykol (PEG) alebo prírodné polyméry, napríklad alginát, chitozan, karagenan, hyaluronan a karboxymetylcelulóza (CMC) [38].

2.8.1 Sol-gélové metódy

Pri vzniku gélov môžeme pozorovať náhly nárast viskozity zmesi reaktantů. Je to dej, ktorý pripomína fázovú premenu kvapaliny na tuhú látku. Tepelný efekt je tiež podobný, ako pri uvoľňovaní skupenského tepla. Na rozdiel od spomenutej fázovej premeny tu ide o komplikovaný dej, na ktorom sa podieľa veľké spektrum iných dejů chemickej a fyzikálnej povahy. Hlavnú fázú vzniku gélov je možné rozčleniť do nasledujúcich krokov: 1. Polymerizácia monomérů vedúca ku vzniku primárnych častíc, 2. rast častíc, 3. vytváranie reťazcov vzájomným spájaním častíc a tvorba priestorových sietí gélov [40].

Sól-gélové metódy sú populárne z rôznych príčin. Prvou je možnosť prípravy veľkého množstva látok, ktoré môžu pri menších zmenách chemického zloženia vykazovať kvantum meniacich sa fyzikálno-chemických vlastností. Druhou príčinou je možnosť dosiahnuť veľkú variabilitu produktů aj pri obmedzenom množstve reaktantů. Medzi ďalšie výhody tiež patria možnosť prípravy látok pri nízkej teplote a možnosť prípravy vysoko čistých materiálov. Tá súvisí hlavne s vyššou čistotou prekursorů, než u tradičných východiskových materiálov. Z hľadiska zastupiteľnosti metód sól-gél prechodu inými metódami existujú dva prípady. V prvom sú tieto metódy považované za nahraditeľné a o ich používaní rozhoduje hlavne cena. Druhý prípad zahŕňa metódy nenahraditeľné, teda tie, u ktorých nie je možnosť prípravy alternatívnym spôsobom. Tieto metódy sú využívané bez ohľadu na ich cenu. Tieto sól-gél aplikácie sa sústreďujú najmä v mikroelektronike a vojenskej či kozmickej technike a typickí predstavitelia sú v tomto prípade aerogély [40].

3 SÚČASNÝ STAV RIEŠENEJ PROBLEMATIKY

Hydrogély sú čoraz častejšie materiály, ich aplikácie je možné nájsť takmer vo všetkých oblastiach ľudskej činnosti od poľnohospodárstva, cez potravinársky priemysel, kozmetológiu, priemysel detergentov, farieb a lakov až po regeneratívnu medicínu. Aplikácie hydrogélů súvisia hlavne s biologickou kompatibilitou a vysokým množstvom absorbovanej vody v týchto systémoch. V oblasti medicíny nachádzajú hydrogély uplatnenie v oblasti vývoja kmeňových buniek, ako zdrojové materiály pre tkanivové lešenia, hojenia rán, mobilnej diagnostike a dodaní liečiv [29].

Metódy rozptylu svetla a hlavne dynamický rozptyl svetla sú veľmi citlivé na prítomnosť agregátov molekúl v analyzovanej vzorke už od ich stopových koncentrácií.

Proces gelácie je spojený s prepájaním pôvodných molekúl do trojrozmiernej siete, ktorá prestupuje celým disperzným prostredím. Z toho je zrejmé, že proces gelácie vzorku je spojený so skokovým nárastom veľkosti častíc. Z týchto dôvodov je možné metódu DLS využiť pre detekciu prvopočiatkov tvorby gélovej štruktúry v meraných vzorkách [31].

Gelácia agarózy bola vyvolaná prechodom od cievky do štruktúry skrutkovice. Vzhľadom k tomu, bol obsah skrutkovice úmerný agarózovej koncentrácii. Vzhľadom ku kritickému exponentu modulu pružnosti, ktorý súvisí s priestorovým rozmerom a kritickým exponentom korelačnej dĺžky a podľa vlastností pružnosti bolo možné experimentálne vyhodnotiť nielen modul pružnosti o prechode systému sol-gél, ale aj korelačnú dĺžku. Dĺžka korelácie v agarózovom géle bola meraná metódou DLS. Bolo zistené, že korelačné dĺžky sú účinné ako parameter pre mikroštruktúry gélovej siete [32].

V práci [38] bola využitá DLS mikroeológia a Ramanova spektroskopia pre štúdium fyzikálnych a chemických zmien agarózového roztoku, ktorý prechádzal v gél. Boli monitorované reologické vlastnosti akými sú komplexná viskozita a viskoelasticita v závislosti na teplote. Pri ochladzovaní pod 35 °C bolo preukázané zvýšenie nenenewtonovského chovania, viskozity a viskoelasticity. To znamená, že pri klesnutí teploty pod túto hodnotu začala gelácia roztoku agarózy.

Autori v článku [41] tvrdia, že ak sa roztok alginátu sodného po kvapkách pridáva do roztoku s obsahom dvojmocných kovových iónov, vytvárajú sa vo vode nerozpustné kation-alginátové gélové perličky. Tieto gély nie sú termoreverzibilné, ale rozpúšťajú sa v prítomnosti látok, ktoré majú väčšiu afinitu voči kladne nabitým iónom (napr. EDTA). Alginát sodný môže byť rozpustený vo vode v podobe lepkavého vodného roztoku. Viskozita roztoku sa zvýši pozoruhodne so zvyšujúcou sa koncentráciou alginátu sodného. Charakteristická pevnosť gélu je však v opačnom smere, čo znamená, že vysokú pevnosť sprevádza vysoká koncentrácia alginátu sodného, preto sa najčastejšie využíva roztok alginátu sodného o koncentrácii 1 %. Pevnosť gélu a proteínová difúzia boli použité paralelne k objasneniu rôznych aspektov stability gélu. Pevnosť gélu je dôležitá, ak je potrebné odovzdať mechanickú integritu do implantovaného materiálu. Proteínová difúzia cez gél je dôležitá pre imuno-isolatorné aplikácie a pre odhad priemernej veľkosti pórov gélu.

Ca²⁺ iónmi siet'ovaný alginát sa rovnako využíva pre bunkovú kultúru in vitro a tkanivové inžinierske aplikácie. Alginátové gély sú stále viac využívané ako modelový systém pre kultúry cicavčích buniek v biomedicínskych štúdiách. Tieto gély môžu byť ľahko prispôsobené a môžu slúžiť buď ako 2-D alebo viacerých fyziologicky príslušných systémov 3-D kultúry. Alginát sa tiež používa ako biologicky umelá látka pre tvorbu chrupavky. Suspenzia buniek v biologicky umelej látke, napríklad v algináte, súvisí s významnými zmenami vo fyzikálnom a mechanickom prostredí buniek v porovnaní s ich pôvodnou extracelulárnou matrix (ECM). Veľké množstvo aplikácií alginátového gélu zahŕňa dodávanie liečiva. Akými sú napríklad mikroenkapsulácia Langerhansových ostrovcov a alginátovo - založené bioreaktory pre rozsiahle výroby biologických produktov, napríklad monoklonálne protilátky. Konvenčné role alginátu vo farmácii zahŕňa formovanie gélu a stabilizátor, ako alginát môže hrať významnú úlohu v produktoch s riadeným uvoľňovaním liečiva. Orálne

dávkové formy sú v súčasnosti najčastejším použitím alginátu vo farmaceutických aplikáciách, ale použitie alginátových hydrogélů ako skladov pre lokalizované tkanivá na podávanie liekov rastie [33].

Gélové stability agarózy a alginátu s a bez chromafinných (CAC) buniek z drene teľacích nadobličiek, boli v práci [41] monitorované pomocou pevnosti gélu, a okrem toho bola hodnotená aj stabilita alginátu proteínovou difúziou. Počiatočná pevnosť gélu agarózy bola na rozdiel od alginátu, znížená za prítomnosti CAC buniek. Obe techniky uvádzajú, že počet väzieb alginátu vápenatého sa znižuje s časom, čo má za následok rozrušenie pevnosti gélu a zvýšenie priepustnosti pre rozpustené látky strednej veľkosti. Kompresný test, ktorý sa využíva na sledovanie pevnosti gélu sa ľahko používa a je zvlášť priaznivý pre vplyv živých buniek na stabilitu matrice. Väčšina štúdií alginátových roztokov bola zameraná na štrukturálne charakteristiky akými sú sekvencie a konformácie reťazca, iónová selektivita alebo reologické vlastnosti. Šírenie rozpustených látok do alebo cez gélovité polyméry bolo tiež dosť dobre preskúmané. V umelom kultúrnom systéme riadili fyzikálne vlastnosti umelej matrix deformácie a trakcie použité v bunkách a menili tiež dôležité bunka – matrix interakcie v pôvodnom systéme, ktoré regulovali aktivitu buniek v reakcii na mechanický stres. K dispozícii je málo informácií, ktoré by hovorili o vlastnostiach sieťovaného alginátu za fyziologických podmienok.

Pomocou DLS a SLS bola v práci [40] študovaná termoreverzibilná gelácia metylcelulózy vo vodnom roztoku. Boli skúmané roztoky pri 20 °C, kedy pomocou rozptylu svetla bola stanovená molekulová hmotnosť, viriálny koeficient, polomer otáčania a hydrodynamický polomer polyméru. Tiež boli prevedené reologické merania, ktoré naznačovali slabú supramolekulárnu asociáciu. Gelácia prebiehala v dvoch stupňoch, v prvom stupni nastalo zvýšenie nízkofrekvenčného dynamického modulu pružnosti a v druhom stupni sa rapídne zvýšil s teplotou elastický modul a rozptýlená intenzita sa zvýšila výrazne v širokom rozmedzí rozptylu vlnového vektora.

4 CIELE PRÁCE

Hlavným cieľom tejto bakalárskej práce je využitie nekonvenčných metód rozptylu svetla pre účely štúdia bodu gelácie biopolymérnych gélov. V rámci práce tak bude nutné v prvom rade previesť rešerš literatúry, na základe ktorej budú zvolení vhodní reprezentatívni zástupcovia opticky transparentných biopolymérnych gélov. Ďalej bude nutné sa tiež zamerať na zvolenú optimalizáciu jednotlivých metód rozptylu svetla tak, aby boli využiteľné pre danú problematiku. Výstupom z práce by mala byť ucelená metodika stanovenia bodu gelácie, ktorá môže v prípade transparentných gélov predstavovať cennú alternatívu konvenčnej metódy.

5 EXPERIMENTÁLNA ČASŤ

5.1 Chemikálie

- alginát sodný, p.a. (Sigma Aldrich, Co.), CAS = 9005-38-3
- agaróza, p.a. (Sigma Aldrich, Co.), CAS = 9012-36-6
- ultračistá demineralizovaná voda (ELGA – LabWater)
- chlorid vápenatý dihydrát, p.a. (PENTA s.r.o.), CAS = 10035-04-8
- polystyrénový časticový štandard, p.a. (Sigma Aldrich, Co.), (certifikovaná veľkosť = 100 nm)

5.2 Použité prístroje

- analytické váhy Scaltec
- DLS – ZetaSizer Nano ZS (Malvern Instrument)
- MPT-2 Multi Purpose Titrator (Malvern Instruments)
- PURELAB-flex (ELGA – LabWater)
- reometer – Discovery HR2 (TA Instruments)
- vyhrievacia doska ETA 2107

5.3 Príprava vzoriek

5.3.1 Príprava vzoriek pre štúdium agarózy

Vzorky použité pri meraní gelácie agarózy metódou DLS boli pripravené o koncentráciách 0,1 hm.%, 0,5 hm.% a 1 hm.%. Na analytických váhach boli navážené potrebné množstvá agarózy, ktoré boli kvantitatívne prevedené do kadičiek. Ako rozpúšťadlo bola použitá ultračistá demineralizovaná voda o objeme 10 ml v každej vzorke. Vzorky boli následne umiestnené na vykurovaciu dosku so sieťkou, kde boli za stáleho miešania sklenenou tyčinkou zahrievané na 85 °C. Po zahriatí na požadovanú teplotu boli kadičky s roztokmi vložené do predom vyhriateho ultrazvuku na 1 minútu. Následne boli k roztokom pridané polystyrénové (PS) častice o veľkosti 100 nm. Pomer PS častíc bol 10 μ l na 10 ml. Roztoky boli po celý čas udržiavané pri teplote 75 °C. Každý pripravený roztok bol následne prefiltrovaný do 3 kyviek cez 5 μ m striekačkový filter. Prvá z kyviek bola ihneď meraná a ďalšie dve boli udržiavané pri teplote 75 °C a následne tiež zmerané, kvôli presnejším výsledkom merania.

Na meranie gelácie agarózy metódou DLS mikrореologіe boli použité rovnaké koncentrácie roztokov ako pri meraní veľkosti častíc. Tiež bol zvolený aj rovnaký postup prípravy vzoriek pred meraním.

5.3.2 Príprava vzoriek pre štúdium alginátu sodného

Vzorky alginátu sodného, ktoré boli použité k meraniu boli pripravené o koncentráciách 0,5 g/l, 1,0 g/l a 5 g/l. Alginát sodný bol navážený na analytických váhach pre každú koncentráciu a následne boli navážky prevedené do 50 ml odmerných bánk. Ďalej boli tieto navážky doplnené ultračistou demineralizovanou vodou do objemu 50 ml. Roztoky v odmerných bankách boli umiestnené na magnetickú miešačku, kde boli premiešavané po dobu 1 až 2 dní.

Obdobne boli pripravené aj vzorky chloridu vápenatého. Bola pripravená koncentrácia 10 g/l.

5.3.3 Príprava vzoriek pre reologické merania agarózy

Vzorky pre meranie reologických vlastností agarózy boli pripravené o koncentráciách 0,1 hm.%, 0,5 hm.% a 1,0 hm.%. Na prípravu bola použitá ultračistá demineralizovaná voda o objeme 10 ml pre každú koncentráciu. Na analytických váhach boli navážené hmotnosti odpovedajúce koncentráciám v roztokoch. Navážky boli kvantitatívne prevedené do kadičiek a doplnené ultračistou demineralizovanou vodou na objem 10 ml. Vzorky boli následne zahriate na magnetickej miešačke na 60 °C, ďalej boli vložené do ultrazvuku na 1 minútu a následne boli až po dobu merania udržiavané na teplote 60 °C.

5.4 Meranie difúzneho koeficientu za použitia PS častíc

Princípom merania je sledovanie zmien difúzneho koeficientu častíc sondy (PS, nominálna veľkosť 100 nm) vo vzorke v závislosti na meranej teplote. Roztoky agarózy boli merané v kyvetách metódou DLS. Kyveta bola vždy vložená do predom vytemperovaného (60 °C) kyvetového priestoru prístroja ZetaSizer Nano ZS. Následne boli prevádzané merania metódou DLS s nasledujúcim nastavením: Teplotný trend s rozsahom od 60 °C do 25 °C s krokom 5 °C. Ostatné parametre boli nastavené nasledovne: temperačný čas bol 180 sekúnd, celkový počet meraní bol nastavený na tri merania, každé meranie bolo zložené z 11 čiastkových meraní s intervalom 10 sekúnd.

5.5 Mikrereologické meranie agarózových roztokov za použitia PS častíc

Pomocou DLS a prístroja ZetaSizer Nano ZS bola meraná aj mikrereológia agarózových roztokov. Bol použitý modul Microrheology a teplotný rozsah ako aj parametre boli nastavené rovnako ako pri meraní difúzneho koeficientu.

5.6 Meranie pomocou autotitrátora

Titrácie boli prevádzané titračnou jednotkou (MPT-2), ktorá je súčasťou prístroja ZetaSizer Nano ZS. Tento typ titračného merania bol využitý pre štúdium interakcií v systéme alginát sodný – chlorid vápenatý.

V softvéri prístroja bol vždy zvolený koncentračný rozsah a veľkosť prídavku odpovedajúci zmene koncentrácie titračného činidla vo vzorke (bližšie informácie k nastaveniu sú uvedené v tabuľke 1).

Pre roztoky bola zvolená koncová koncentrácia a prídavok titračného činidla. Autotitrácia mala nasledovný postup: 10 ml roztok alginátu sodného o určitej koncentrácii bol pripojený k autotitrátoru tak, aby bolo možné pridávanie titračného činidla do roztoku. Roztok chloridu vápenatého bol upevnený taktiež k autotitrátoru tak, aby bolo čerpadlu umožnené pridávať toto titračné činidlo do vzorku. Vzorka bola počas celého merania premiešavaná pomocou magnetickej miešačky, ktorá je taktiež súčasťou titračnej jednotky. Meranie bolo prevádzané v prietochnej cele, cez ktorú bola vzorka cirkulovaná čerpadlom. Po každom prídavku titračného činidla bola zmeraná veľkosť častíc a zeta potenciál. Počas celého merania bolo zaznamenávané pH pomocou pH elektródy ponorenej vo vzorku.

Tabuľka 1: Hodnoty použité pri titráciách rôznych koncentrácií

Počiatočná koncentrácia (g/l)		Titrované rozmedzie (mol/l)
Alginát sodný	Chlorid vápenatý	
0,5	10,0	0,0 – 1,50
1,0	10,0	0,0 – 3,74
5,0	10,0	0,0 – 3,74

5.7 Reologické merania agarózy

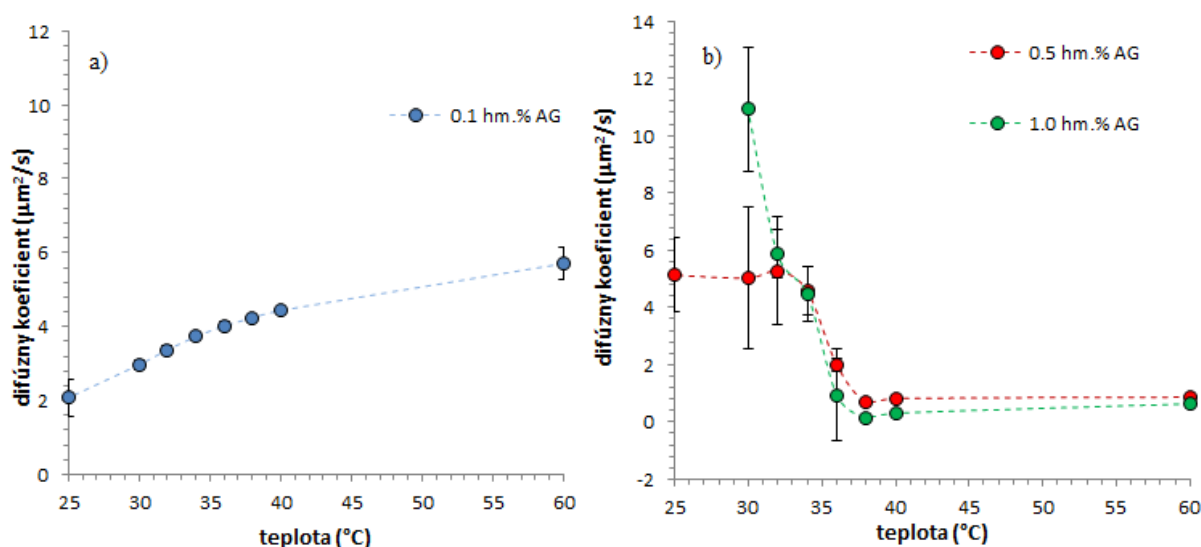
Pre merania boli pripravené vzorky agarózových roztokov o koncentráciách 0,1 hm.%, 0,5 hm.%, 1,0 hm.%. Merania prebiehali na reometre HR 2, senzorom bola oceľová geometria typu valec/valec. Meranie bolo prevádzané pri frekvencii 1 Hz a prístroj bol vytemperovaný na teplotu 60 °C. Vzorka bola chladená zo 60 °C na 20 °C s krokom 2 °C za minútu.

6 DISKUSIA A VÝSLEDKY

V tejto práci bola študovaná gelácia roztokov dvoch gelotvorných polysacharidov, u ktorých gelácia prebieha rozdielnym spôsobom. Prvým bol polysacharid agaróza, u ktorej je gelácia spôsobená zmenou teploty, druhým polysacharidom bol alginát, kde gelácia prebiehala prídavkom viacväzbových kationov. Pre stanovenie bodu gelácie boli zvolené metódy rozptylu svetla, keďže tieto metódy sú citlivé na prítomnosť častíc o väčšej veľkosti.

6.1 Stanovenie gelácie agarózy

Agaróza je termoreverzibilný biopolymér, ktorý géluje už pri nízkej teplote. Naopak pri vysokej teplote je rozpustný vo vodnom roztoku, kvôli tejto vlastnosti bol využitý pri tejto práci práve vplyv teploty na štúdium gelácie. Na určenie boli využité metódy rozptylu svetla, ktoré sú výrazne citlivé na detekciu tvorby agregátov vo vzorku. Vzorky boli merané v rozmedzí teplôt od 60 °C do 25 °C. U agarózy zosieťovaním vznikli väčšie častice, takže tieto metódy boli vhodnou voľbou. Prvou použitou metódou bolo jednoduché sledovanie difúzneho koeficientu častíc traceru (polystyrénové častice o veľkosti 100 nm) pomocou dynamického rozptylu svetla (DLS). Táto práca naväzuje na predchádzajúce práce z FCH VUT, kde mimo iné prebehla aj optimalizácia výberu častíc a ich prídavku konkrétne v bakalárskej práci [42].



Obrázok 5: Vzájomné porovnanie difúzných koeficientov – 5a) Závislosť difúzneho koeficientu na teplote u 0,1 hm.% roztoku agarózy, 5b) Závislosť difúzneho koeficientu na teplote u 0,5 hm.% a 1,0 hm.% roztoku agarózy

Ako je vidieť na Obrázku 5a, s rastúcou koncentráciou agarózy klesá difúzny koeficient, pretože s rastúcou koncentráciou výrazne rastie aj viskozita vzorku.

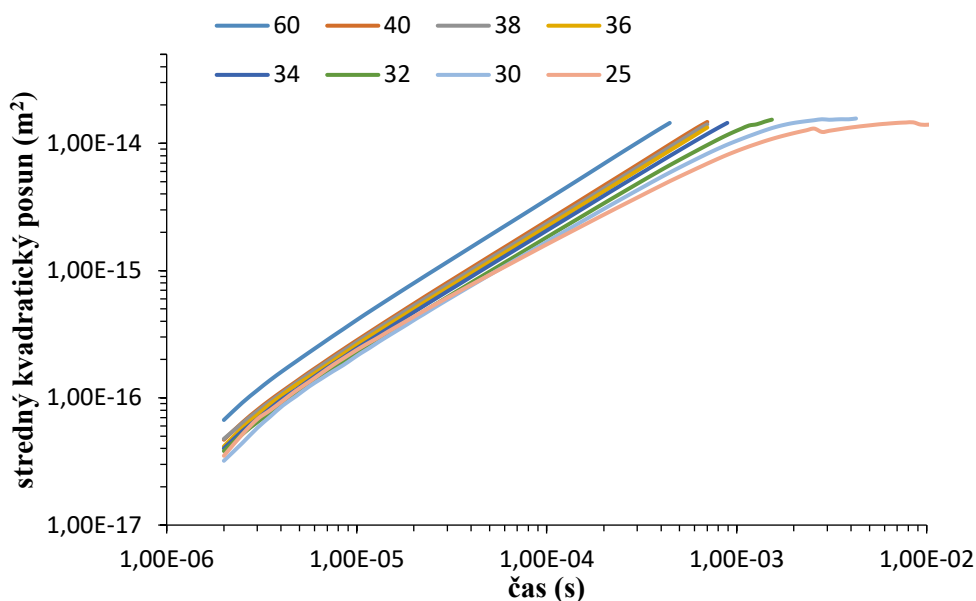
U všetkých kriviek je vidieť obdobný trend, a to, že s klesajúcou teplotou najskôr klesá difúzny koeficient. To súvisí s tým, že je spomaľovaný Brownov pohyb a tým sa spomaľuje aj nameraný difúzny koeficient vo vzorkách. Teplotná kompenzácia, ktorá je zahrnutá v prístroji by fungovala, len ak by meranie prebiehalo vo vode. Keďže meranie prebiehalo v roztoku agarózy, tak postupne dochádzalo ku spomaľovaniu pohybu častíc (do cca 38 °C), tie postupne viac začali prekážať časticiam polystyrénového traceru a to sa prejavilo klesajúcim difúznym koeficientom. Pri ochladzovaní na nižšie teploty bol u jednotlivých vzoriek už odlišný trend (cca od 36 °C). V prípade 0,1 hm.% roztoku agarózy bola koncentrácia nízka takže vzniknutý gél takmer vôbec neovplyvňoval pohyb traceru, a preto s ďalším poklesom teploty nameraná hodnota difúzneho koeficientu častíc traceru v tomto géle ďalej klesá. U vzoriek 0,5 hm.% a 1,0 hm.% roztokov agarózy nastal skokový nárast v difúznom koeficiente, čo je možno vysvetliť tuhnutím agarózy a teda vytváraním reťazcov, ktoré sa pohybujú pomalšie a prekážajú traceru v pohybe. Následným stuhnutím vznikla nehybná sieť

s okami, tie majú podľa literatúry [43] rády stoviek nanometrov až do niekoľko mikrónov a s rastúcou koncentráciou agarózy sa zmenšovali, to znamená, že sa v tejto sieti častice traceru mohli voľne pohybovať a difúzny koeficient rástol.

Tieto úvodné merania boli prevedené kvôli tomu, aby sme boli schopní overiť či je metóda DLS schopná detekovať geláciu. Meraniami bolo zistené, že metódou DLS je možno detekovať geláciu agarózy v roztoku, avšak až od koncentrácie 0,5 hm. %.

6.2 DLS mikroreológia

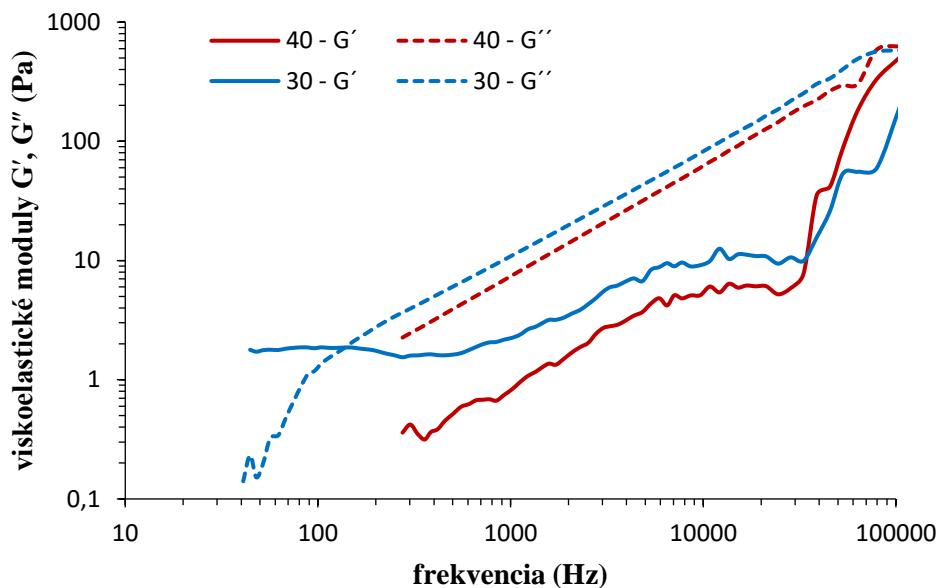
Ďalšou metódou použitou pri meraní bola DLS mikroreológia (použité polystyrénové častice o veľkosti 100 nm). Táto metóda bola využitá v tejto bakalárskej práci hlavne kvôli možnosti analýzy reologických charakteristík materiálov v širšom rozsahu frekvencií, než je to u klasickej reológie a k získaniu presnejších vyhodnotení z meraní.



Obrázok 6: Teplotná závislosť a vplyv na namerané hodnoty stredného kvadratického posunu (MSD) na čase pozorovania vzorku 0,1 hm.% roztoku agarózy

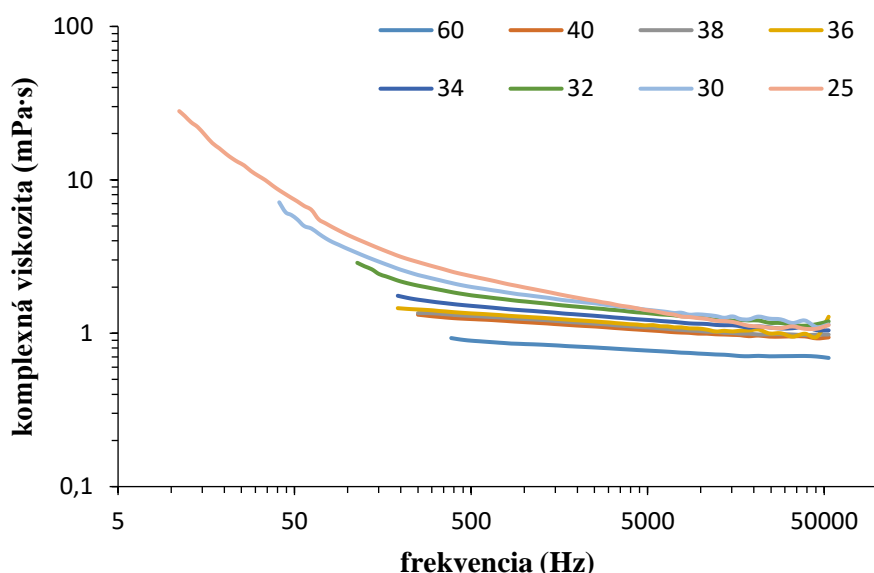
Z hodnôt stredného kvadratického posunu je zrejmé, že s klesajúcou teplotou dochádzalo k rastu viskozity roztokov, čo na obrázku 6 môžeme vidieť ako posun lineárnych kriviek smerom dole. Od teploty 34 °C dochádzalo k miernemu zakriveniu kriviek, pri 32 °C je toto zakrivenie výraznejšie. Toto zakrivenie je spôsobené prejavom elastickej zložky vznikajúceho gélu.

Vzájomné porovnanie viskoelastického chovania gélov pred a po gelácii je ilustrované na závislostiach nameraných hodnôt elastického modulu G' a viskózneho modulu G'' na frekvencii oscilácií traceru vo vzorke.



Obrázok 7: Závislosti viskoelastických modulov G' a G'' na frekvencii pred a po gelácii roztokov agarózy o koncentrácii 0,1 hm. %

Na obrázku 7 sú zobrazené závislosti viskoelastických modulov G' a G'' , kde môžeme vidieť, že pri teplote 40 °C bol viskózný modul počas celej doby merania nad elastickým. To znamená, že v materiáli prevládalo viskózne chovanie, teda sa jednalo o kvapalinu. Pre teplotu 30 °C bol pri nízkych frekvenciách oscilácií častíc traceru naopak vo vzorkách dominantný elastický modul. To poukazuje na to, že sa materiál choval ako tuhé teleso. Pri vyšších frekvenciách oscilácií častíc traceru začalo prevládať viskózne chovanie. Toto bolo spôsobené najmä tým, že disperzným prostredím pri meraní bola voda, teda častice vzorku sa nakoniec dostali cez sieť vzniknutého agarózového gélu. Zmenu vo viskozite zmeraného roztoku spôsobenú geláciou agarózy je možné ilustrovať na teplotnej závislosti nameraných hodnôt komplexnej viskozity, tieto závislosti sú uvedené na obrázku 8.

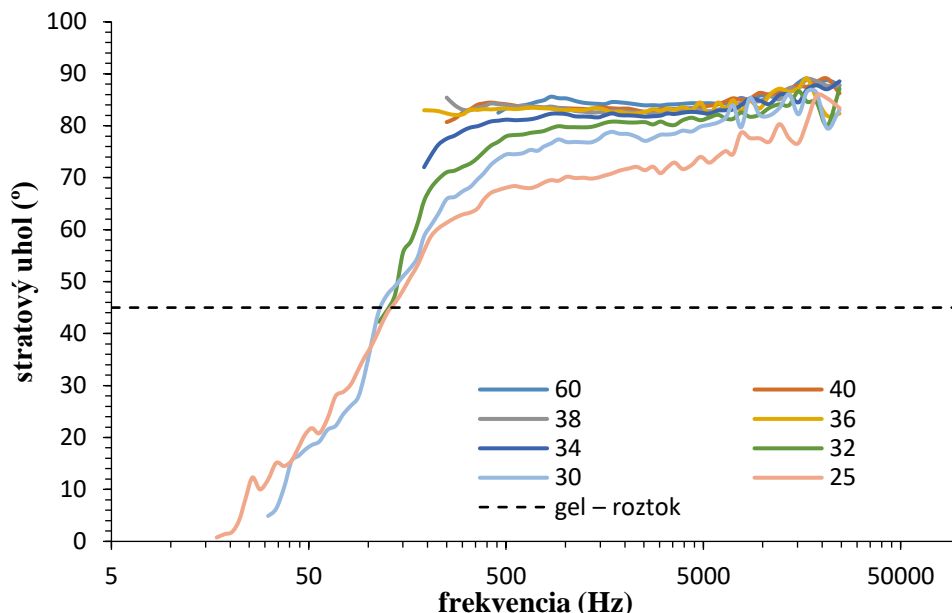


Obrázok 8: Závislosť komplexnej viskozity na teplote merania 0,1 hm. % roztoku agarózy

Závislosť komplexnej viskozity na frekvencii z obrázku 8 zobrazuje krivky, kde pri vyšších teplotách môžeme pozorovať takmer Newtonské chovanie, teda vzorka sa chovala takmer ako ideálna

kvapalina, čo je zrejme z prakticky konštantnej hodnoty viskozity. S klesajúcou teplotou sa tam začala prejavovať elastická zložka a teda začala výrazne rásť komplexná viskozita.

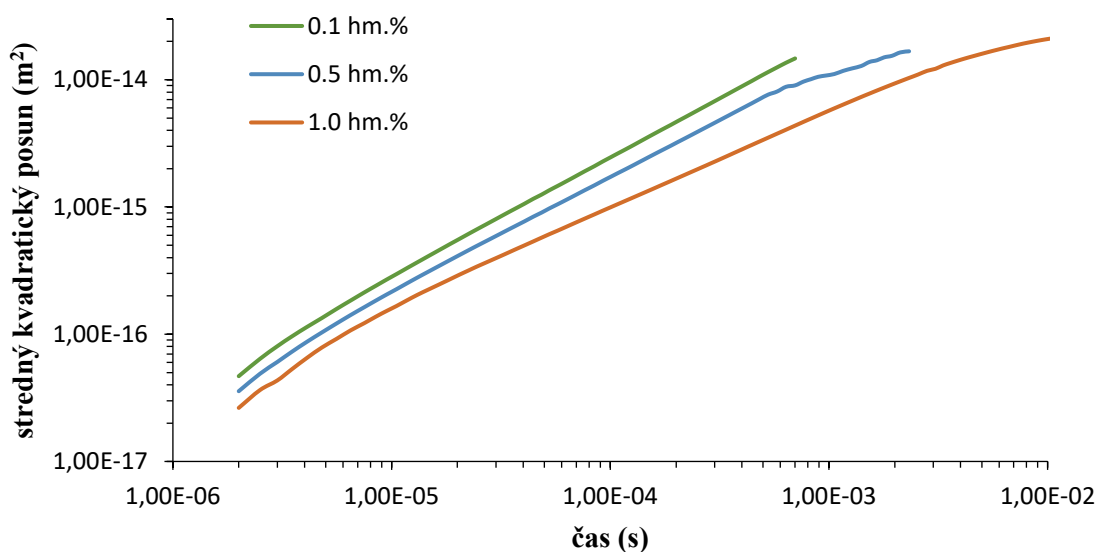
Z mikroeologického merania agarózových roztokov boli odčítané hodnoty G' a G'' a z nich boli spočítané stratové uhly pre rôzne teploty. Ak je stratový uhol väčší než 45° , tak je to dominantné viskózne chovanie, ale ak je hodnota stratového uhlu pod 45° , tak prevláda elastické chovanie.



Obrázok 9: Závislosť stratového uhlu na frekvencii merania pre vzorky 0,1 hm% roztoku agarózy

Na obrázku 9 môžeme vidieť, že u teplôt 25°C , 30°C , 32°C a čiastočne u 34°C klesol stratový uhol pod 45° , to znamená, že medzi teplotami 34°C a 32°C dochádzalo ku gelácii agarózového roztoku. Toto meranie bolo prevedené na roztoku agarózy o koncentrácii 0,1 hm.%.

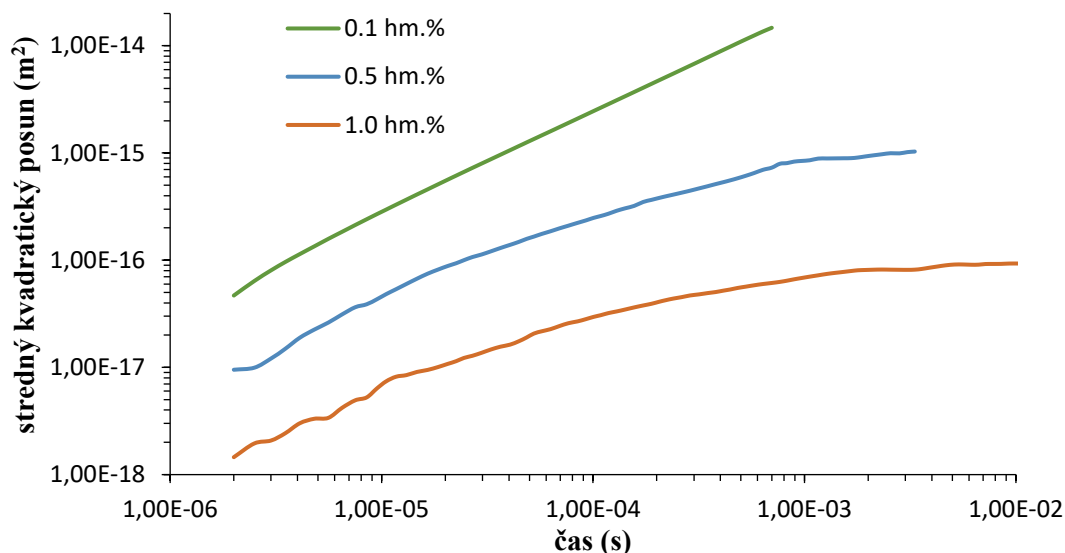
Z meraní boli vybrané dve teplotné hodnoty, ktoré vyjadrujú stav roztokov pred geláciou a po gelácii v nasledujúcich grafických výstupoch potom budú na týchto dvoch príkladoch porovnané jednotlivé študované koncentrácie agarózy. Prvé vzájomné porovnanie je znázornené v závislosti stredného kvadratického posunu (MSD) na čase.



Obrázok 10: Závislosť stredného kvadratického posunu na čase pre roztoky pri teplote 40°C

Na obrázku 10 môžeme vidieť namerané dáta pre tri študované koncentrácie agarózy pri 40 °C, vyobrazené krivky sú takmer v celom rozsahu lineárne a len minimálne sa zahýbajú smerom doprava čo znamená, že s rastúcou koncentráciou agarózy sa elastická zložka prejavuje len minimálne.

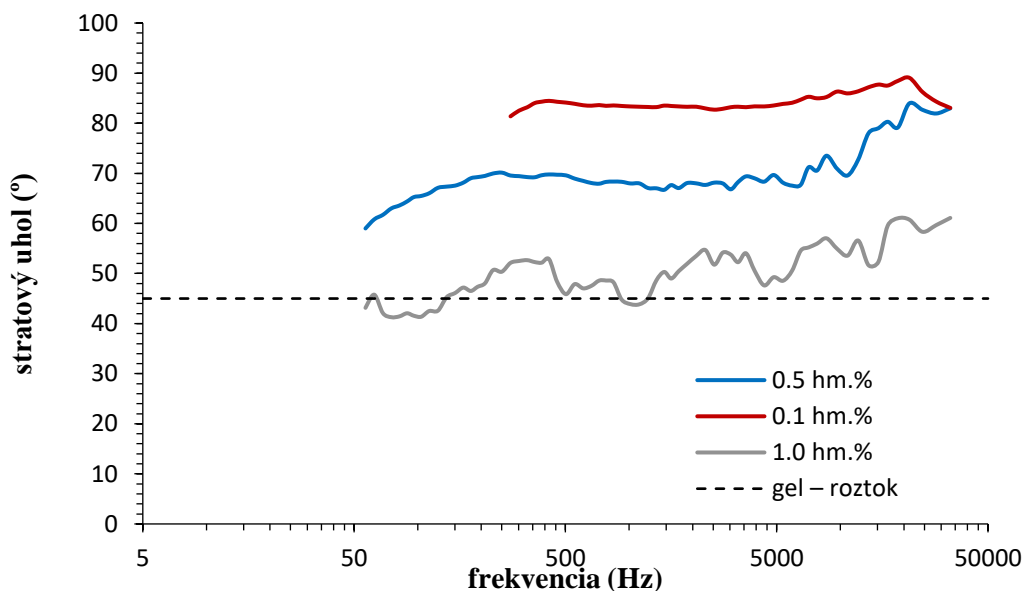
Teplota 30 °C by už mala pre všetky koncentrácie znamenať, že roztok zgeloval a teda ohyb by mal byť viac viditeľný (obrázok 11).



Obrázok 11: Závislosť stredného kvadratického posunu na čase pre roztoky pri teplote 40 °C

Zatiaľ čo u koncentrácie 0,1 hm.% nie je ohyb až taký výrazný, tak u koncentrácií 0,5 hm.% a 1,0 hm.% je zgelovanie roztoku agarózy očividné.

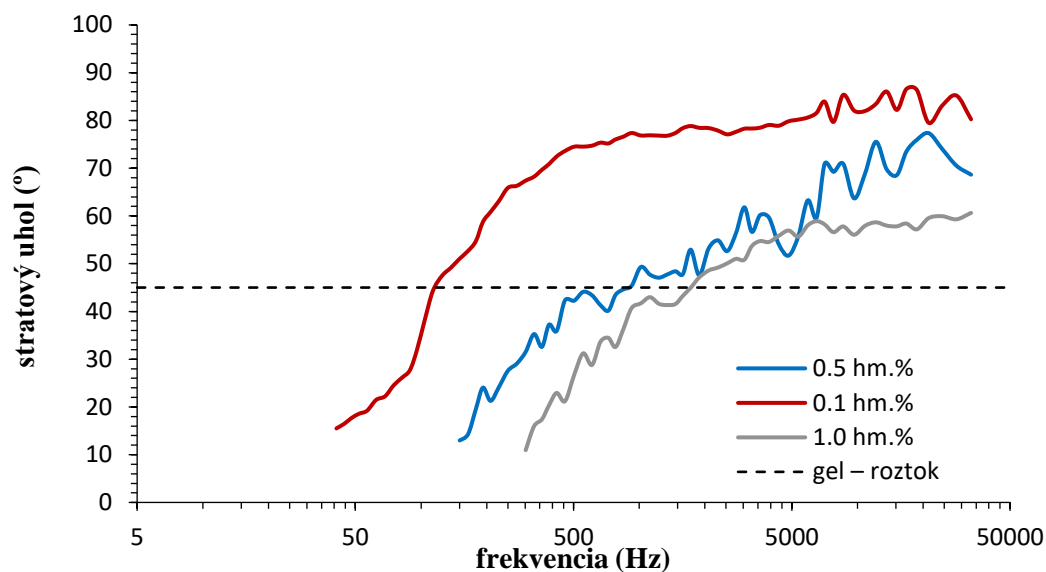
U gélov boli z viskoelastických modulov napočítané stratové uhly a tieto hodnoty boli vynesené do závislostí na frekvenciách znovu podľa dvoch teplotných hodnôt 40 °C a 30 °C.



Obrázok 12: Závislosť stratového uhlu na frekvencii pri teplote 40 °C

Pri teplote 40 °C sú hodnoty stratových uhlov u všetkých koncentrácií nad 45 °, len u koncentrácie 1,0 hm.% sú pri nízkych frekvenciách pod 45 ° (obrázok 12).

Hodnoty stratových uhlov pre teplotu 30 °C sú pre všetky koncentrácie pod 45 ° čo znamená, že sa jednalo o gél (obrázok 13).

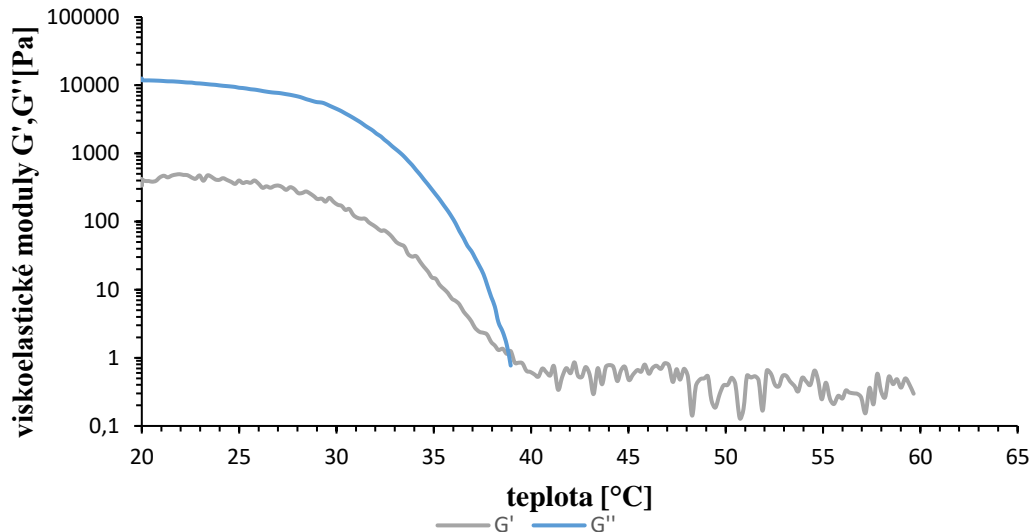


Obrázok 13: Závislosť stredného kvadratického posunu na čase pre roztoky pri teplote 30 °C

S rastúcou frekvenciou oscilácií častíc nakoniec dôjde k tomu, že častice prejdú vytvorenou sieťou a hodnoty stúpnu nad 45 °.

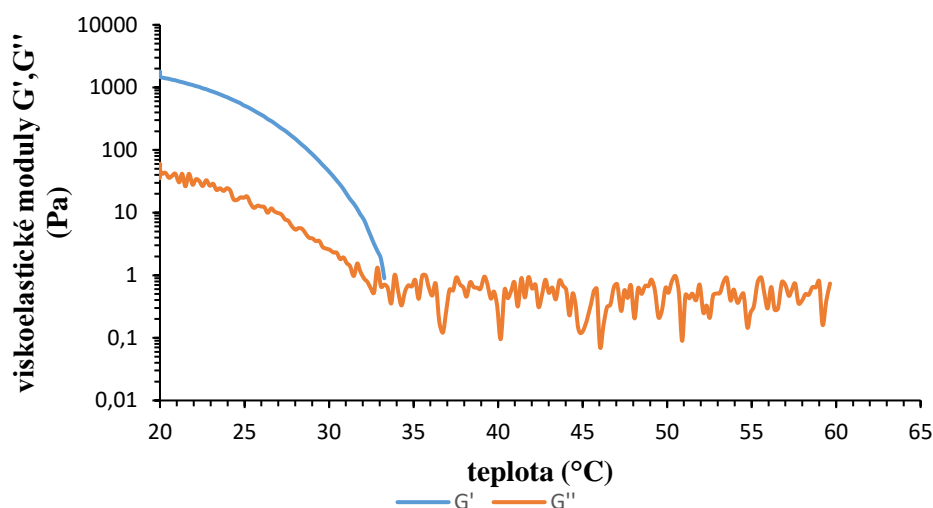
6.3 Reologické merania agarózy

V rámci bakalárskej práce bola pre štúdium gelácie a fázového prechodu koloidného roztoku na gél tiež využitá konvenčná makroreológia. Pomocou reológie boli zmerané teplotné rampy u troch koncentrácií agarózových roztokov. Meranie prebiehalo chladením roztokov zo 60 °C na 20 °C. Nasledujúce obrázky zobrazujú závislosti viskoelastických modulov na teplote.



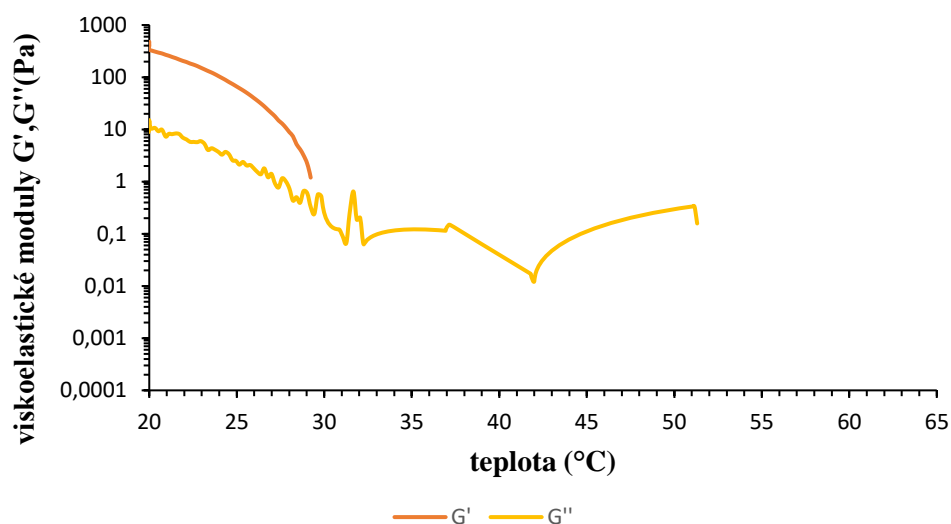
Obrázok 14: Závislosť viskoelastických modulov na teplote pre koncentráciu 1,0 hm.% roztoku agarózy

Bol spočítaný priesečník, pomocou funkcie LINREGRESE bola stanovená hodnota teploty gelácie roztoku agarózy o koncentracii 1,0 hm.% na 39,24 °C (obrázok 14).



Obrázok 15: Závislosť viskoelastických modulov na teplote pre koncentráciu 0,5 hm.% roztoku agarózy

Pre koncentráciu agarózového roztoku 0,5 hm.% bola stanovená obdobne ako u predchádzajúcej koncentrácie teplota gelácie na 34,80 °C (obrázok 15).



Obrázok 16: Závislosť viskoelastických modulov na teplote pre koncentráciu 0,1 hm.% roztoku agarózy

Pre agarózový roztok o koncentracii 0,1 hm.% roztoku bola spočítaná hodnota 30,94 °C (obrázok 16).

6.4 Korelácia metód stanovenia bodu gelácie agarózy

Z jednotlivých metód boli pre tri koncentrácie agarózových roztokov stanovené body gelácie.

Výsledky z týchto meraní sú uvedené v tabuľke 2.

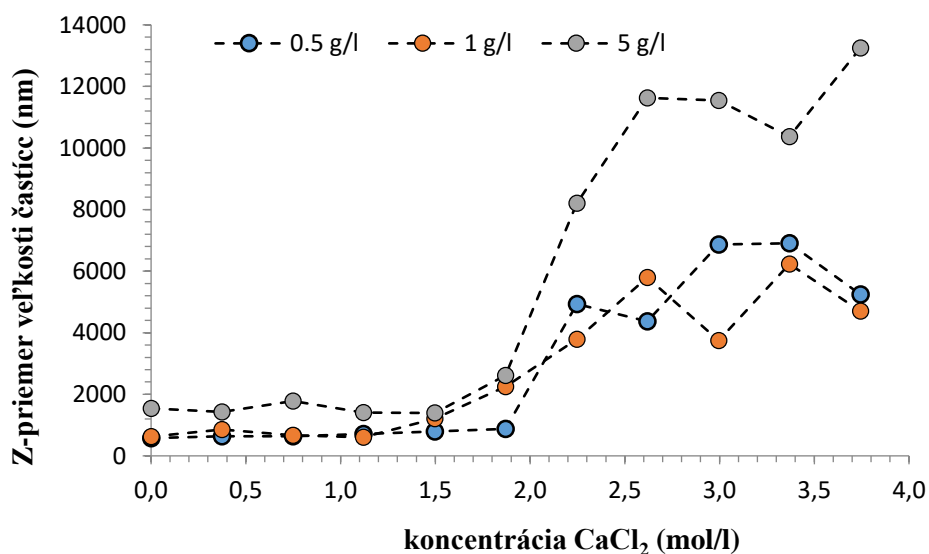
Tabuľka 2: Jednotlivé hodnoty bodov gelácie pre tri rôzne koncentrácie.

Koncentrácia roztoku agarózy (hm.%)	DLS teplotné rampy (°C)	DLS mikrореológia (°C)	Klasická reológia (°C)
0,1	–	32,0 – 34,0	30,9 ± 0,2
0,5	34,5 ± 1,0	34,0 – 36,0	34,8 ± 1,3
1,0	35,7 ± 0,6	–	39,2 ± 0,5

Meraniami boli stanovené teploty gelácie jednotlivých roztokov o rôznych koncentráciách. Bolo zistené, že metódou DLS nie je možno detekovať geláciu u roztoku o koncentrácii 0,1 hm.%, avšak bola stanovená teplota gelácie u roztokov o koncentracii 0,5 hm.% a 1,0 hm.%. Metódou DLS mikrореológie boli stanovené intervaly teplôt, pri ktorých roztoky gélovali. Nepodarilo sa získať hodnoty gelácie u roztoku o koncentrácii 1,0 hm.%, pretože v roztoku úplne prevládalo elastické chovanie. K presnejšiemu vyhodnoteniu by boli potrebné doplňujúce merania. Klasickou reológiou boli zistené teploty gelácie všetkých troch koncentrácií. Ako je možno v tabuľke 2 vidieť, pri koncentrácii 0,5 hm.% sú teploty gelácie porovnateľné, teda metódy použité k štúdiu gelácie boli zvolené vhodne. Hodnota bodu gelácie agarózy, tak ako ju deklaruje výrobca pre roztok o koncentrácii 1,5 hm.% je 36 °C [44], teda merania prevedené v tejto bakalárskej práci odpovedajú.

6.5 Stanovenie gelácie alginátu sodného

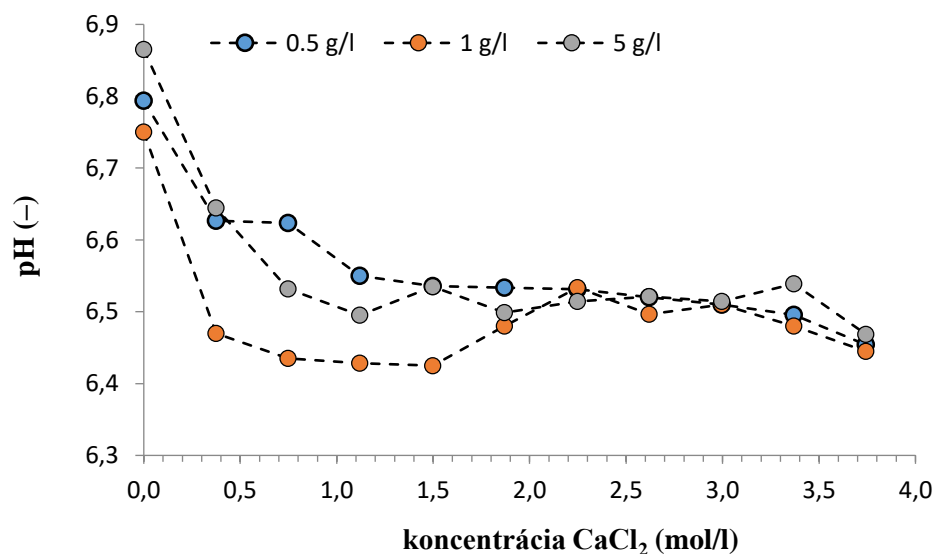
Alginát sodný je látka, ktorá po pridaní viacväzbového kladného iónu geluje. Pre overenie boli v rámci tejto bakalárskej práce využité vápenaté ióny. Meranie prebiehalo v titračnom režime, kedy sa do roztoku alginátu o rôznych koncentráciách pridával roztok chloridu sodného. Samotná detekcia prebiehala metódou DLS. Výsledok získaných nameraných zmien vo veľkostiach alginátu sodného po prídavku Ca^{2+} iónov je znázornený na obrázku 17.



Obrázok 17: Závislosť Z-priemeru veľkosti častíc na koncentrácii CaCl_2

Ako vyplýva z Obrázku 17, pri nižších koncentráciách nevidíme výrazný nárast veľkosti častíc, čo znamená, že agregácia systému a teda celkový nárast veľkosti častíc začína až pri koncentrácii 1,5 mol/l – 2,0 mol/l CaCl_2 . U roztokov agarózy o koncentráciách 0,1 hm.% a 0,5 hm.% sú veľkosti častíc po agregácii porovnateľné (častice obidvoch koncentrácií majú Z-priemer v rozmedzí 4000 nm – 8000 nm). Avšak u roztoku s koncentraciou 5,0 hm.% sú častice väčšie (Z-priemer veľkosti častíc je v rozmedzí od 8000 nm po cca 12000 nm). S rastúcou koncentraciou roztoku veľkosť častíc taktiež rastie.

Ďalšími titraciami bolo zistené, že v tomto prípade nedochádza k výrazným zmenám v pH roztokov. Túto skutočnosť vysvetľuje obrázok 18.



Obrázok 18: Závislosť pH vzorku na koncentrácii CaCl_2

Podľa Obrázku 18 je očividné, že agregácia je spôsobená siet'ovaním cez Ca^{2+} ióny a nie je to spôsobené len zmenou pH. Aj napriek tomu, že meraniami boli získané isté hodnoty, kedy dochádzalo ku agregácii alginátu s určitým obsahom Ca^{2+} iónov v systéme, tak pri kombinácii s vizuálnym pozorovaním je zrejmé, že nedošlo k plnému zgélovaniu systému, ale len k čiastočnému vyzrážaniu alginátu. Pre plné zgélovanie by bolo treba zvýšiť prídavok Ca^{2+} iónov alebo odseparovať zrazeninu napríklad odstredivou silou. Z meraní je teda možno vidieť, že v prípade alginátu nebol pozorovaný priamo bod gelácie, ale len akýsi prvopočiatok agregácie, ktorú by po zvýšení prídavku Ca^{2+} iónov nasledovala gelácia.

7 ZÁVER

Táto bakalárska práca bola zameraná na štúdium gelácie hydrogélom pomocou rôznych techník rozptylu svetla. V práci boli použité dva polysacharidy – agaróza a alginát. V experimentálnej časti boli okrem postupov pri jednotlivých meraniach zobrazené aj výsledky z týchto meraní. Merania prebiehali metódou dynamického rozptylu svetla, DLS mikrореológie a klasickej reológie.

Prvou použitou technikou bola metóda DLS, sledovaním difúzneho koeficientu polystyrénových častíc traceru v rozpätí teplôt. Tieto merania prebiehali pre tri koncentrácie agarózových roztokov. Tieto úvodné merania mali za úlohu overiť vhodnosť použitej metódy k detekcii gelácie. U roztoku o koncentrácii 0,1 hm.% bolo zistené, že s klesajúcou teplotou klesá taktiež aj difúzny koeficient, ale nebola detekovaná výrazná gelácia. Naopak u koncentrácie 0,5 hm.% bola detekovaná gelácia pri teplote $(34,5 \pm 1,0) ^\circ\text{C}$, kedy difúzny koeficient výrazne vzrástol. Tento istý trend bol sledovaný u koncentrácie 1,0 hm.% roztoku agarózy pri teplote $(35,7 \pm 0,6) ^\circ\text{C}$.

Druhou metódou použitou v tejto bakalárskej práci bola DLS mikrореológia. Z tohto merania bolo vyhodnotené, že v roztoku sa od teploty $34 ^\circ\text{C}$ začala prejavovať elastická zložka a pri $32 ^\circ\text{C}$ sa prejavila výraznejšie, preto môžeme túto teplotu predpokladať za prvú hodnotu teploty gelácie pre roztok o koncentrácii 0,1 hm.%. Ďalej bol sledovaný teplotný trend $40 - 30 ^\circ\text{C}$. Vyhodnotením elastického modulu G' a viskózneho modulu G'' na frekvencii oscilácií traceru vo vzorke bolo zistené, že nad teplotou gelácie prevládalo viskózne chovanie a vzorku bolo možné považovať za kvapalinu. Zatiaľ čo pod teplotou gelácie sa už vo vzorke prejavil elastický modul a ten bol dominantný hlavne pri nízkych frekvenciách oscilácií, kde sa vzorka chovala ako tuhá látka. Zmena vo viskozite roztoku agarózy bola ilustrovaná aj na teplotnej závislosti komplexnej viskozity na frekvencii. Bolo dokázané, že od hodnoty $34 ^\circ\text{C}$ sa s klesajúcou teplotou začala prejavovať elastická zložka a tiež výrazne vzrástla komplexná viskozita. Obdobným spôsobom boli vyhodnotené výsledky aj pre roztok o koncentrácii 0,5 hm.%, kde teplota gelácie nastala v intervale teplôt $34 ^\circ\text{C} - 36 ^\circ\text{C}$. V tejto bakalárskej práci bola použitá tiež klasickej reológia, ktorá bola využitá na zistenie teplôt gelácie roztokov agarózy pre tri použité koncentrácie. Z hodnôt viskoelastických modulov v závislosti na teplote bola stanovená teplota gelácie 1,0 hm.% roztoku agarózy na $(39,2 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$. U koncentrácie 0,5 hm.% bola stanovená teplota gelácie na $(34,8 \pm 1,3) ^\circ\text{C}$ a u koncentrácie 0,1 hm.% bola hodnota teploty gelácie stanovená na $(30,9 \pm 0,2) ^\circ\text{C}$.

Metódou DLS boli okrem agarózy stanovované aj interakcie polysacharidu alginátu. Bol použitý titračný režim, v ktorom boli k roztoku agarózy pridávané Ca^{2+} ióny. Zo Z - priemeru veľkostí častíc bolo potvrdené, že dochádza k agregácii systému pri koncentrácii 1,5 mol/l – 2,0 mol/l CaCl_2 . Taktiež bolo sledované pH roztokov, ktoré sa však výrazne nemenilo. To znamená, že agregácia nesúvisí len so zmenou pH, ale hlavne so zosieťovaním Ca^{2+} iónmi. Meraním prevedeným pre účely bakalárskej práce bolo však zistené, že nedošlo k úplnej agregácii, teda systém nezgéloval, došlo len k vyzrážaniu alginátu v roztoku. Dá sa predpokladať, že pri úprave množstva pridaných Ca^{2+} iónov by došlo k úplnej gelácii, preto by bolo vhodné túto metódu optimalizovať v ďalšej práci.

8 POUŽITÁ LITERATÚRA

- [1] KVÍTEK, L., a A., PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 9788024416694.
- [2] BAJEROVÁ, M., GAJDZIOK, J., K. DVOŘÁČKOVÁ, R., MASTEIKOVÁ a P., KOLLÁR. Polosyntetické deriváty celulosy jako základ hydrofilních gelových systémů: Semisynthetic cellulose derivatives as the base of hydrophilic gel systems. *Česká a slovenská farmacie : časopis České farmaceutické společnosti a Slovenské farmaceutické společnosti*. Praha: Česká lékařská společnost J. Ev. Purkyně, 2008, 57(2), 63-69. ISSN 1210-7816.
- [3] ŘEHULA, M., *Návody k základním praktickým cvičením z farmaceutické technologie*. Praha: Karolinum, 2013. ISBN 978-80-246-2378-8.
- [4] HEJČL, A., ŠEDÝ J., KAPCALOVÁ, M., et al. HPMa-RGD Hydrogels Seeded with Mesenchymal Stem Cells Improve Functional Outcome in Chronic Spinal Cord Injury. *Stem Cells and Development*. 2010, 19(10), 1535-1546 [cit. 2018-01-03]. DOI: 10.1089/scd.2009.0378.
- [5] DESZCZYNSKI, Marcin, Stefan KASAPIS a John R. MITCHELL. Rheological investigation of the structural properties and aging effects in the agarose/co-solute mixture. *Carbohydrate Polymers*. 2003, 53(1), 85-93 [cit. 2018-01-03]. DOI: 10.1016/S0144-8617(02)00327-2.
- [6] AHMED, E. M. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications. *Journal of Advanced Research*. 2015, 6(2), 105-121 [cit. 2018-01-03]. DOI: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- [7] VARGHESE, S., a J. H. ELISSEFF. Hydrogels for Musculoskeletal Tissue Engineering. WERNER, Carsten, ed. *Polymers for Regenerative Medicine*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2006, 2006-1-10, s. 95-144 [cit. 2018-01-03]. Advances in Polymer Science. DOI: 10.1007/12_072.
- [8] LEE, Kuen Yong a Soon Hong YUK. Polymeric protein delivery systems. *Progress in Polymer Science*. 2007, 32(7), 669-697 [cit. 2018-01-03]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2007.04.001
- [9] SAARAI, A., *Hydrogels for biomedical applications: Hydrogely pro použití v biomedicině: doctoral thesis summary*. Zlín: Tomas Bata University in Zlín, 2012. ISBN 978-80-7454-240-4.
- [10] MAITRA, J., a V. K. SHUKLA. Cross-linking in Hydrogels. *American Journal of Polymer Science*. 2014, 4(2), 25-31 [cit. 2017-04-15]. DOI: 10.5923/j.ajps.20140402.01.
- [11] YAHIA, L., Hocine. History and Applications of Hydrogels. *Journal of Biomedical Sciences*. 2015, 04(02), - [cit. 2018-01-03]. DOI: 10.4172/2254-609X.100013. ISSN 2254609x.
- [12] JIA, Y., KANNO Y. a Z. XIE. New gel-casting process for alumina ceramics based on gelation of alginate. *Journal of the European Ceramic Society* 2002, 22(12), 1911-1916 [cit. 2016-05-12]. DOI: 10.1016/S0955-2219(01)00513-1.
- [13] WAIGH, T A, B. S. MURRAY a T. MOSCHAKIS. *Microrheology of complex fluids*. DOI: 10.1088/0034-4885/68/3/R04.
- [14] ŠEVČÍKOVÁ, P., KAŠPÁRKOVÁ V., KREJČÍ J. a VLTAVSKÁ P.. Dynamický rozptyl světla v analýze koloidních systémů. *Chemické listy*. 2014, 2014(108), 479-482. ISSN 0009-2770
- [15] MALVERN INSTRUMENTS LTD. 2003, 2004. Zetasizer Nano Series User Manual. 1.1. Anglie, 2004.
- [16] HIEMENZ, P. C. a R. RAJAGOPALAN. *Principles of colloid and surface chemistry*. 3rd ed., rev. and expanded. Boca Raton: Taylor & Francis, c1997. ISBN 0-8247-9397-8.
- [17] Angular Dependence of Scattered Light and Size. WYATT Technology Europe 2014
- [18] Clogston J. D. and patri A. K. Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery, *Methods in Molecular Biology* 2011, vol. 697, DOI:10.1007/978-1-60327-198-1_6
- [19] BOURNE, M. C. Food texture and viscosity: concept and measurement. 2nd ed. San Diego: Academic Press, 2002. Chap. 3, Physics and Texture. Viscoelasticity. ISBN 0121190625
- [20] BARNES, H.A. *An introduction to rheology*. 3. Amsterdam: Elsevier, 1998. ISBN 9780444874696.

- [21] BARTOVSKÁ, L. a M. ŠÍŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 3., přeprac. a rozš. Praha: VŠCHT, 1999. ISBN 8070803371.
- [22] BENEŠ, J., KYMPLOVÁ J. a F. VÍTEK. *Základy fyziky pro lékařské a zdravotnické obory: pro studium i praxi*. Praha: Grada, 2015. ISBN 9788024747125.
- [23] DICKINSON, E., B. S. MURRAY a T. MOSCHAKIS. *Chapter 20. Particle Tracking as a Probe of Microrheology in Food Colloids*. DOI: 10.1039/9781847557698-00303.
- [24] MOSCHAKIS, T., E. DICKINSON, Brent S. MURRAY a Thomas MOSCHAKIS. Microrheology and particle tracking in food gels and emulsions. *Current Opinion in Colloid* 2013, vol. 18, issue 4, s. 305-318 [cit. 2017-12- 1]. DOI: 10.1039/9781847557698-00303
- [25] HNYLUCHOVÁ, Z., *Mikroreologie ve studiu biopolymerních koloidů*. Brno: Vysoké učení technické, Fakulta chemická, 2012. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická.
- [26] DUFFY, J. J., C.A. REGA, R. JACK a S. AMIN. An algebraic approach for determining viscoelastic moduli from creep compliance through application of the Generalised Stokes-Einstein relation and Burgers model. *Applied Rheology*. 2016, 26(15130), 1-6. DOI: 10.3933/ApplRheol-26-15130.
- [27] KEAVENEY, S. T., K. S. SCHAFFARCZYK MCHALE, J. W. STRANGER, B. GANBOLD, W. S. PRICE a J. B. HARPER. NMR Diffusion Measurements as a Simple Method to Examine Solvent-Solvent and Solvent-Solute Interactions in Mixtures of the Ionic Liquid [Bmim][N(SO₂CF₃)₂] and Acetonitrile. *ChemPhysChem* 2016, 17(23), 3853-3862 [cit. 2017-01-17]. DOI: 10.1002/cphc.201600927.
- [28] Application of Dynamic Light Scattering (DLS) to Protein Therapeutic Formulations: Principles, Measurements and Analysis. *Malvern Panalytical* [online]. [cit. 2018-05-18]. Dostupné z: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/technology/light-scattering/dynamic-light-scattering>
- [29] VODRÁŽKA, Z., *Biochemie*. Praha: Academia, 1992. ISBN 8020004386.
- [30] FERNÁNDEZ, E., D. LÓPEZ, C. MIJANGOS, M. DUSKOVA-SMRCKOVA, M. ILAVSKY a K. DUSEK. *Rheological and thermal properties of agarose aqueous solutions and hydrogels*. DOI: 10.1002/polb.21370.
- [31] CAMMACK, R. (ed.). *Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology*. Rev. ed. New York: Oxford University Press, 2011. ISBN 9780198529170.
- [32] LEE, K. Y. a D. J. MOONEY. Alginate: Properties and biomedical applications. *Progress in Polymer Science* [online]. 2012, 37(1), 106-126 [cit. 2017-01-17]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2011.06.003. ISSN 00796700.
- [33] JEONG, B., S. W. KIM a Y. H. BAE. Thermosensitive sol–gel reversible hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews* 2002, 54(1), 37-51 [cit. 2016-05-14]. DOI: 10.1016/S0169-409X(01)00242-3. ISSN 0169409x.
- [34] AGUILERA, J. M. and D. V. STANLEY. *Microstructural Principles of Food Processing and Engineering*, Second Edition. Aspen Publishers, Gaithersburg, Mary-land, 1999, p. 93-108. ISBN: 0-8342-1256-0.
- [35] POTTER, K., B. J. BALCOM, T. A. CARPENTER a L. D. HALL. The gelation of sodium alginate with calcium ions studied by magnetic resonance imaging (MRI). *Carbohydrate Research* 1994, 257(1), 117-126 [cit. 2016-05-31]. DOI: 10.1016/0008-6215(94)84112-8.
- [36] CONNON, Ch. J. a I. W. HAMLEY. *Hydrogels in cell-based therapies*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2014. RSC soft matter series, 1. ISBN 1849737983
- [37] GULREZ, H., Syed K., Saphwan AL-ASSAF a Glyn O. *Hydrogels: Methods of Preparation, Characterisation and Applications*. DOI: 10.5772/24553.
- [38] AMIN, S., S. BLAKE, S. M. KENYON, R. C. KENNEL a E. N. LEWIS. A novel combination of DLS-optical microrheology and low frequency Raman spectroscopy to reveal underlying

- biopolymer self-assembly and gelation mechanisms. *AIP the journal of chemical physics* 2014, 141(23) [cit. 2017-01-12]. DOI: 10.1063/1.4903785.
- [39] FUJII, T., et al. Scaling analysis on elasticity of agarose gel near the sol–gel transition temperature. *Food hydrocolloids*, 2000, 14.4: 359-363
- [40] KOBAYASHI, K., Ch. HUANG a T. P. LODGE. Thermoreversible Gelation of Aqueous Methylcellulose Solutions. *Macromolecules* 1999, 32(21), 7070-7077 [cit. 2016-06-01]. DOI: 10.1021/ma990242n.
- [41] SHOICHET, M. S., et al. Stability of hydrogels used in cell encapsulation: An in vitro comparison of alginate and agarose. *Biotechnology and bioengineering*, 1996, 50.4: 374-381.
- [42] KRŇÁVKOVÁ, Š. *Studium sol-gel procesu agarózy pomocí klasické reologie a dynamického rozptylu světla*. Brno, 2015. Bakalárska práca. Vysoké učení technické v Brne, Fakulta chemická. Vedoucí práce Ing. Jiří Smilek.
- [43] NARAYANAN, J., J. XIONG a X. LIU, 2006. Determination of agarose gel pore size: Absorbance measurements vis a vis other techniques. *Journal of Physics: Conference Series*. 28, 83-86. DOI: 10.1088/1742-6596/28/1/017.
- [44] *Sigma Aldrich* [online]. [cit. 2018-05-18].
- Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/a9539?lang=en&ion=CZ>

9 ZOZNAM POUŽITÝCH SKRATIEK A SYMBOLOV

9.1 Zoznam použitých skratiek

ACF	autokorelačná funkcia
CAC	chromafinné bunky
CMC	karboxymetylcelulóza
DLS	dynamický rozptyl svetla
DNA	deoxyribonukleová kyselina
DSC	diferenciálna skenovacia kalorimetria
EDC	N,N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethyl karbodiimid
EDTA	kyselina etyléndiamíntetraoctová
MSD	stredný kvadratický posun
NMR	nukleárna magnetická rezonancia
PAA	kyselina polyakrylová
PCS	fotónová korelačná spektroskopia
PEG	polyetylénglykol
PEO	polyetylénoxid
PLA	kyselina polymliečna
PMA	kyselina polymetakrylová
PVA	polyvinylalkohol
PVP	polyvinylpyrrolidin
QELS	kvazielastický rozptyl svetla

9.2 Zoznam použitých symbolov

k_B	Boltzmannova konštanta
η	dynamická viskozita
G'	elastický modul
U_e	elektroforetická mobilita častíc
du_x/dy	gradient rýchlosti
$f(\kappa a)$	Henryho funkcia
n	index lomu
τ	korelačný čas
σ	normálové napätie
a	priemer častíc
ε	relatívne predĺženie
q	rozptylový vektor
u	rýchlosť toku
$tg \delta$	stratový uhol
τ	tangenciálne napätie
η	viskozita rozpúšťadla
G''	viskózný modul
λ	vlnová dĺžka svetla
θ	uhol rozptylu
ξ	zeta potenciál